Nachweis der Identität von Chloramphenicol über die Hydroxylaminstufe im europäischen Arzneibuch

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Thomas Mieger
aus Berlin

Düsseldorf 1982

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41535714_0008

Nachweis der Identität von Chloramphenicol über die Hydroxylaminstufe im europäischen Arzneibuch

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Thomas Mieger
aus Berlin

Düsseldorf 1982

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

1. Gutachter: Prof. Dr. H. Möhrle

2. Gutachter: Prof. Dr. H. Weber

Tag der mündlichen Prüfung: 12. November 1982

Meinen Eltern,
meinen Freunden
und der
Pfalz

Die vorliegende Arbeit entstand auf Anregung und unter Anleitung von

HERRN PROF. DR. H. MÖHRLE

am Institut für Pharmazeutische Chemie der Universität Düsseldorf.

Für die stets großzügig gewährte Unterstützung und Förderung meiner Arbeit sowie das mir entgegengebrachte Wohlwollen bin ich Herrn Prof. Möhrle zu herzlichem Dank verpflichtet.

INHALT

I. Theoretischer Teil

Einleitung und Problemstellung SEITE 1

1.	UMSETZUNG AROMATISCHER NITROVERBINDUNGEN MIT ZINKSTAUB/CALCIUMCHLORID ENTSPRECHEND DER VORSCHRIFT DES EUROPÄISCHEN ARZNEIBUCHS (PH.EUR.) FÜR CHLORAMPHENICOL	4
1.1.	Untersuchung von Modellsubstanzen mit aromatischer Nitrogruppe ohne chlorsubstituierte Seitenkette	8
1.1.1.	4-Nitrotoluol	9
1.1.1.1.	Umsetzung nach Ph.Eur.	10
1.1.2.	4-Nitrobenzylalkohol	13
1.1.2.1.	Umsetzung nach Ph.Eur.	13
1.2.	Untersuchung von Modellsubstanzen mit chlorsubstituierter Seitenkette ohne aromatische Nitrogruppe	16
1.2.1.	N-Benzyl-dichloracetamid	17
1.2.2.	N-Phenethyl-dichloracetamid	21
1.2.3.	N-(1-Hydroxymethyl-2-phenylethyl)-dichloracetamid	21
1.3.	Untersuchungen mit Chloramphenicol	25
1.3.1.	Bildung des Hydroxylamins	25
1.3.2.	Bildung von Azoxyprodukten	26
1.4.	Untersuchungen mit Chloramphenicol-Acetonid	43

1.4.1.	Darstellung	43
1.4.2.	Bildung von Azoxyprodukten	44
2.	UMSETZUNG DER REDUZIERTEN NITROVERBINDUNGEN MIT NATRIUMACETAT/BENZOYLCHLORID NACH PH.EUR.	48
2.1.	Untersuchung von Modellsubstanzen	50
2.1.1.	4-Nitrotoluol	50
2.1.2.	4-Nitrobenzylalkohol	53
2.2.	Untersuchungen mit Chloramphenicol	56
2.2.1.	Isolierung und Charakterisierung der aus Chloramphenicol entstehenden Benzhydroxamsäure	57
2.3.	Entstehung von O-Benzoyl-Benzhydroxamsäuren	63
2.3.1.	aus Chloramphenicol	63
2.3.2.	aus Benzoylchloramphenicol	68
2.3.3.	aus Chloramphenicol-Acetonid	72
2.4.	Einfluß der Dauer der vorausgegangenen Zinkstaubbehandlung auf die Entstehung der O-Benzoyl-Benzhydroxamsäuren	73
2.5.	Der Einfluß von Natriumacetat	75
2.5.1.	auf die mit Eisen(III)-chlorid entstehende Farbe	77
2.5.2.	auf die Menge der zu bildenden Hydroxamsäure	80
3.	DIE FARBREAKTION MIT EISEN(III)-CHLORID (HYDROXAMSÄURE-REAKTION)	84
3.1.	Parameter für die Ausbildung der Farbe	84
3.1.1.	pH-Einfluß	84

3.1.2.	Lösungsmittel-Einfluß	89
3.1.3.	Komplexstabilität	90
3.2.	Isolierung und Charakterisierung des Hydroxamsäure-Eisen(III)-Chelats	90
4.	Folgerungen für die Abwandlung der Arzneibuchvorschrift	97
5.	Die Umsetzung zum Hydroxylamin reduzierter Nitroverbindungen mit Brom im sauren Milieu	100
5.1.	Untersuchung von Modellsubstanzen	103
5.1.1.	4-Nitrobenzylalkohol	106
5.1.2.	4-Nitrophenylethanol	108
5.1.3.	2-(4-Nitrophenyl)-propan-2-ol	111
5.2.	Untersuchung von Chloramphenicol	113
6.	Zusammenfassung	115
II. Experimenteller Teil		120
	Literaturverzeichnis	190
	Lebenslauf	196

Theoretischer Teil

Einleitung und Problemstellung

Die von MULLIKEN[1] bereits 1916 beschriebene und von DAVIDSON[2] modifizierte Farbreaktion zum Nachweis aromatischer Nitroverbindungen wurde zum Identitätsnachweis für Chloramphenicol nach der Pharmacopoea Internationalis (1955) und der British Pharmacopoeia (1968) auch in die Pharmacopoea Europaea II (1975) übernommen.

Die Vorschrift des Europäischen Arzneibuchs (Ph.Eur.) in der Monographie *Chloramphenicolum*[3] lautet:

> "Etwa 10 mg Substanz werden in 1 ml Äthanol 50 Prozent (V/V) gelöst. Die Lösung wird nach Zugabe von 3 ml einer 1prozentigen Lösung (G/V) von Calciumchlorid *R* und 50 mg Zinkstaub *R* im Wasserbad 10 Minuten lang erwärmt. Nach dem Erkalten und Filtrieren werden zum Filtrat 0,1 g Natriumacetat *R* sowie 2 Tropfen Benzoylchlorid *R* hinzugefügt und 1 Minute lang geschüttelt. Die Lösung wird mit 0,5 ml Eisen(III)-chlorid-Lösung *R1* sowie 3 ml verdünnter Salzsäure *R* versetzt und gemischt. Es entsteht eine rotviolette Färbung. Die Prüfung wird ohne Zusatz von Zinkstaub *R* wiederholt. Es entsteht keine Färbung."

Über den eigentlichen Reaktionsverlauf und die entstehenden farbgebenden Produkte liegen in der Literatur - von

---

1) MULLIKEN, Identification of Pure Organic Compounds, Vol.II, S.30, John Wiley & Sons, New York 1916

2) D.DAVIDSON, J. Chem. Educ. 17, 81 (1940)

3) Europäisches Arzneibuch, Amtliche Ausgabe, Band II, S.172

vagen Vermutungen[2,4] abgesehen - keine Angaben vor.

Unsere Annahme ging dahin, daß aus der Nitroverbindung Chloramphenicol zunächst durch Reduktion das entsprechende Hydroxylamin entsteht, das mit Säurechlorid zur Hydroxamsäure umgesetzt und diese als violetter Eisenkomplex nachgewiesen wird.

In diesem Zusammenhang schien auch die Überprüfung der von AWE und STOHLMANN[5] bei Untersuchungen zur bromometrischen Gehaltsbestimmung postulierten Aminstufe des Chloramphenicols nach Reduktion unter milden Bedingungen und anschließender Bildung von Tribromanilin angezeigt, da nach unserer Auffassung ein Hydroxylamin-Intermediärprodukt den Reaktionsverlauf besser erklären würde.

Es war deshalb Ziel der vorliegenden Arbeit,

1. das nach Benzoylierung und Eisen(III)-chlorid-Zugabe zu einer violetten Färbung reagierende Endprodukt der Identitätsprüfung für Chloramphenicol nach Ph.Eur. zu isolieren und zu charakterisieren,
2. die durchlaufenen Zwischenstufen - auch im Hinblick auf evtl. entstehende, unerwünschte Nebenprodukte - aufzuklären,
3. gegebenenfalls Abwandlungen der Reaktion hinsichtlich einer Vereinfachung bzw. Optimierung vorzunehmen,

---

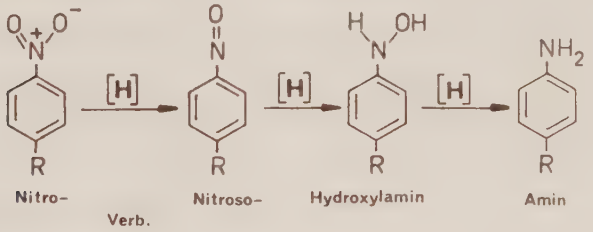
4) A.BEINROTH, Dissertation Tübingen 1980

5) W.AWE und H.STOHLMANN, Arch. Pharm. (Weinheim) 289, 387 (1956)

4. den Reaktionsverlauf für die von AWE und STOHLMANN[5] beschriebene Umsetzung des reduzierten Chloramphenicols mit Brom aufzuklären.

1. Umsetzung aromatischer Nitroverbindungen mit Zinkstaub / Calciumchlorid entsprechend der Vorschrift des Europäischen Arzneibuchs (Ph.Eur.) für Chloramphenicol

Aus aromatischen Nitroverbindungen können je nach Wahl des Reduktionsmittels und der Reduktionsbedingungen (pH) die verschiedenen Zwischenstufen[6] - Nitroso- und Hydroxylaminverbindung - abgefangen und so dargestellt werden.



Speziell für die Gewinnung aromatischer Hydroxylamine wird neben der Reduktion mit Hydrogensulfiden vor allem die sog. Zinkstaubmethode als bewährte und einfache Darstellungsweise empfohlen[7-9].

---

6) F.HABER und C.SCHMIDT, Z. Physik. Chem. 32, 271 (1900)

7) HOUBEN-WEYL, Methoden der organischen Chemie, Bd. 10/1, 4. Auflage, S.1138, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1971

8) A.WOHL, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 27, 1432 (1894)

9) E.BAMBERGER, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 27, 1548 (1894)

Dabei wird die gelöste oder suspendierte Nitroverbindung in der Regel in neutralem Milieu durch Eintragen von Zinkstaub in Gegenwart von Calciumchlorid oder Ammoniumchlorid bei erhöhten Temperaturen mit hohen Ausbeuten zum Hydroxylamin reduziert.
Als Lösungsmittel kommen je nach Löslichkeit entweder Wasser oder wäßrig-organische Lösungsmittel in Frage, bei sehr unpolaren Nitroverbindungen kann auch im Zwei-Phasen-System (organisches Lösungsmittel / Calciumchlorid-Lösung) gearbeitet werden.

Neben den im HABER'schen Schema (S. 4) genannten Reduktionsprodukten können jedoch auch durch Kondensations-, Redox- oder Disproportionierungs-Reaktionen zwischen den einzelnen, intermediär durchlaufenen Reduktionsstufen Nebenprodukte gebildet werden[10,11]. So ist eine Kondensation von Nitrosoverbindungen mit Hydroxylaminen zu Azoxyverbindungen möglich, vor allem, wenn dies durch alkalische Reaktionsmedien begünstigt wird.
Reduktionen im neutralen bzw. schwach sauren Milieu können insbesondere bei "negativ substituierten" Nitroverbindungen

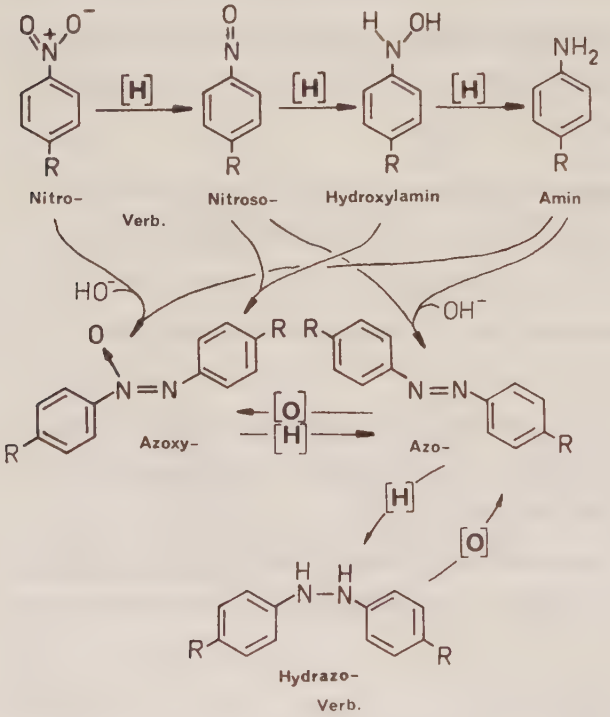
---

10) HOUBEN-WEYL, Methoden der organischen Chemie, Bd.10/3, 4.Aufl., S.346 f. und S.755 f., Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1965

11) E.BAMBERGER, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 33, 113 (1900)

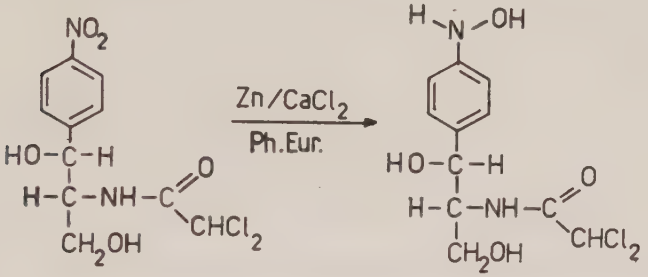
ebenfalls zu Azoxyverbindungen führen[12].

Folgendes Schema soll eine Übersicht über die Reaktionsprodukte geben, die bei einer Reduktion aromatischer Nitroverbindungen mit der Zinkstaubmethode durchlaufen werden bzw. entstehen können.



12) K.BRAND und J.MAHR, J. Prakt. Chem. (2), 131, 97 (1931)

Der erste Teil der Identitätsreaktion A auf Chloramphenicol nach Ph.Eur. sieht ebenfalls eine Reaktion der Nitroverbindung im wäßrig-alkoholischen (neutralen) Milieu mit Zinkstaub in Gegenwart von Calciumchlorid vor.
Es lag daher die Annahme nahe, daß dabei die Hydroxylaminstufe des Chloramphenicols erreicht wird.



Um dies - insbesondere, was die Reaktionsbedingungen der Ph.Eur. anbelangt - genauer zu untersuchen, wurden zunächst Versuche mit Modellsubstanzen durchgeführt.

1.1. Untersuchung von Modellsubstanzen mit aromatischer Nitrogruppe ohne chlorsubstituierte Seitenkette

Da Chloramphenicol die beiden für einen Naturstoff auffälligen Merkmale einer aromatischen Nitrogruppe sowie einer Dichloracetylfunktion in einer Aminopropandiol-Seitenkette aufweist, konnte nicht ausgeschlossen werden, daß durch die Zinkstaub-Reduktion an der Seitenkette ebenfalls Veränderungen auftreten.
Aus diesem Grunde wurden als Modellsubstanzen Verbindungen ohne dichlorsubstituierte Seitenketten eingesetzt.
Hierfür bot sich zunächst *4-Nitrotoluol* an, dessen Reaktionsprodukte bereits ausführlich beschrieben sind.
Um die Löslichkeitsverhältnisse bei den Modellversuchen möglichst den authentischen des Chloramphenicol-Ansatzes anzupassen, wurde als weitere Verbindung der unter Ph.Eur.-Bedingungen besser lösliche *4-Nitrobenzylalkohol* gewählt.

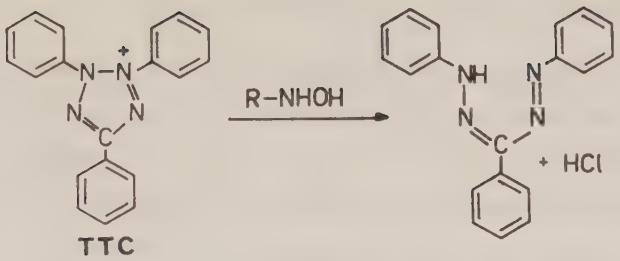
Unabhängig von den speziellen Reaktionsverhältnissen der Ph.Eur. sollten zunächst die jeweiligen Hydroxylamin-Derivate zum Vergleich dargestellt und charakterisiert werden.
Zur schnellen, besonders auch dc Identifizierung von Hydroxylaminen wurde die Umsetzung mit TTC zum rotgefärbten Triphenylformazan gewählt[13-15].

---

13) G.A.SNOW, J. Chem. Soc. 1954, 2588

14) M.A.T.ROGERS, J. Chem. Soc. 1955, 769

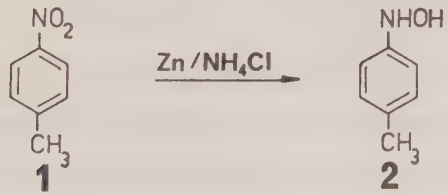
15) A.W.NINEHAM, Chem. Rev. 55, 355 u. 422 (1955)



TTC

1.1.1. 4-Nitrotoluol

Für die Darstellung von p-Tolylhydroxylamin (**2**) aus 4-Nitrotoluol (**1**) werden viele Möglichkeiten genannt[16]. Von den Zinkstaub-Reduktionsmethoden nach BAMBERGER[17] erwies sich die Durchführung im Zwei-Phasen-System Ether/Wasser in Gegenwart von Ammoniumchlorid am günstigsten.



1 **2**

Das so erhaltene p-Tolylhydroxylamin (**2**) ist unter Vakuum und Lichtausschluß über mehrere Wochen haltbar.

---

16) HOUBEN-WEYL, Methoden der organischen Chemie, Bd. 10/1, 4.Aufl., S.1143 ff., Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1971

17) E.BAMBERGER und A.RISING, Justus Liebigs Ann. Chem. 316, 280 (1901)

1.1.1.1. Umsetzung von 4-Nitrotoluol nach Ph.Eur.

Auch unter den Bedingungen der Ph.Eur. sollte die Bildung des entsprechenden Hydroxylamins zu erwarten sein. BEINROTH[4)] stellte jedoch fest, daß auf diese Weise lediglich 2- und 3-Nitrotoluol zu Hydroxylaminen umgewandelt werden. Bei 4-Nitrotoluol soll dagegen die Reaktion ausbleiben. Dies wurde damit erklärt, daß die Reaktivität der Nitrogruppe durch Substituenten mit +M-Effekt erniedrigt werde, da diese die Elektronendichte des aromatischen Systems und damit auch der Nitrogruppe erhöhten.
Der negative Ausfall der Reduktion von 4-Nitrotoluol nach Ph.Eur. konnte indes durch eigene Versuche widerlegt werden.
Zwar war es nicht möglich, das betreffende Hydroxylamin zu isolieren, es konnte jedoch

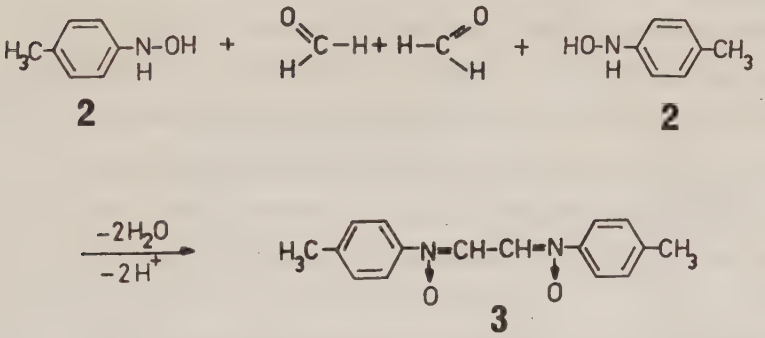
1. durch positive TTC-Raktion,
2. durch dc-Vergleich mit der authentischen Substanz und
3. durch N-Benzoylierung zur Hydroxamsäure **36** und anschließender Eisen(III)-chlorid-Reaktion (vgl. 2.1.1.)

nachgewiesen werden.
Außerdem gelang es, aus dem vom Zink befreiten Ansatz durch Zugabe von Formaldehyd[18)] das kristalline Bisnitron **3** darzustellen.
Die so erhaltene Substanz war identisch mit einer unabhän-

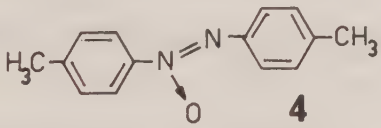
---

18) E.BAMBERGER, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 33, 941 (1900)

gig aus **2** und Formaldehyd dargestellten Verbindung:



Weiterhin kristallisierte beim Erkalten des vom Zink befreiten Ph.Eur.-Ansatzes ein gelbes Produkt in filzigen Nadeln; es fiel sofort analysenrein an und wurde als p-Azoxytoluol (**4**) identifiziert[19].



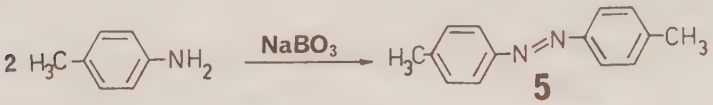
Diese Verbindung stellt offensichtlich das Kondensationsprodukt aus der Nitrosoverbindung und dem Hydroxylamin **2** dar und gibt somit einen weiteren Hinweis auf primär entstandenes Hydroxylamin.

Auffällig ist jedoch, daß die Azoxyverbindung aus dem Ph.Eur.-Ansatz zu über 80 Prozent, bezogen auf die einge-

---

19) H.W.GALBRAITH, E.F.DEGERING und E.F.HITCH, J. Am. Chem. Soc. 73, 1323 (1951)

setzte Menge an 4-Nitrotoluol , anfällt und danach die Mutterlauge keine positive TTC-Reaktion mehr gibt; ein DC zeigt das Hydroxylamin nur noch in Spuren.
Aus diesem Grund ist für die Weiterreaktion durch N-Benzoylierung (s. 2.1.1.) ein längeres Stehenlassen des Ansatzes zu vermeiden, da sich offensichtlich das Hydroxylamin und die teilweise ebenfalls entstandene Nitroso-Verbindung sehr rasch zum gemeinsamen Azoxyprodukt stabilisieren.
Um festzustellen, ob neben der ausgefallenen Azoxyverbindung **4** auch die entsprechende Azoverbindung **5** entstanden war, wurde **5** unabhängig durch Oxidation von p-Toluidin mittels Natriumperborat in Eisessig[20] dargestellt und mit der Mutterlauge des Ph.Eur.-Ansatzes dc verglichen.



5

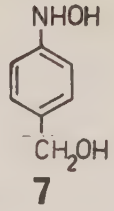
Eine Trennung von Azoxytoluol (**4**) und Azotoluol (**5**) war im Fließmittelgemisch Petrolether-Chloroform (50:50) eindeutig möglich.
Das Chromatogramm der Mutterlauge und der ausgefallenen Verbindung zeigte keine Spur der Azoverbindung.

---

20) S.M.METHA und M.V.VAKILWALA, J. Am. Chem. Soc. 74, 563 (1952)

1.1.2. 4-Nitrobenzylalkohol

Im Gegensatz zum p-Tolylhydroxylamin (**2**) wird die Darstellung des entsprechenden Benzylalkohols **7** lediglich in einer Patentschrift[21] mittels der Zinkstaub-Methode erwähnt. Genauere Angaben fehlen indes. Das entstehende kristalline Hydroxylamin soll zudem sehr unbeständig sein.



7

Da eine analoge Vorschrift für o-Hydroxylaminobenzylalkohol[22] ebenfalls nicht zum gesuchten Produkt führte, stand somit kein authentisches Material zur Verfügung.

1.1.2.1. Umsetzung von 4-Nitrobenzylalkohol nach Ph.Eur.

Als Nitroverbindung mit primärer alkoholischer Funktion ist 4-Nitrobenzylalkohol (**6**) im wäßrig-ethanolischen Milieu weit besser löslich als 4-Nitrotoluol (**1**) und läßt sich in den gleichen Mengenverhältnissen einsetzen, wie es im Europäischen Arzneibuch für die Identitätsreaktion A[3] für Chloramphenicol vorgeschrieben ist.

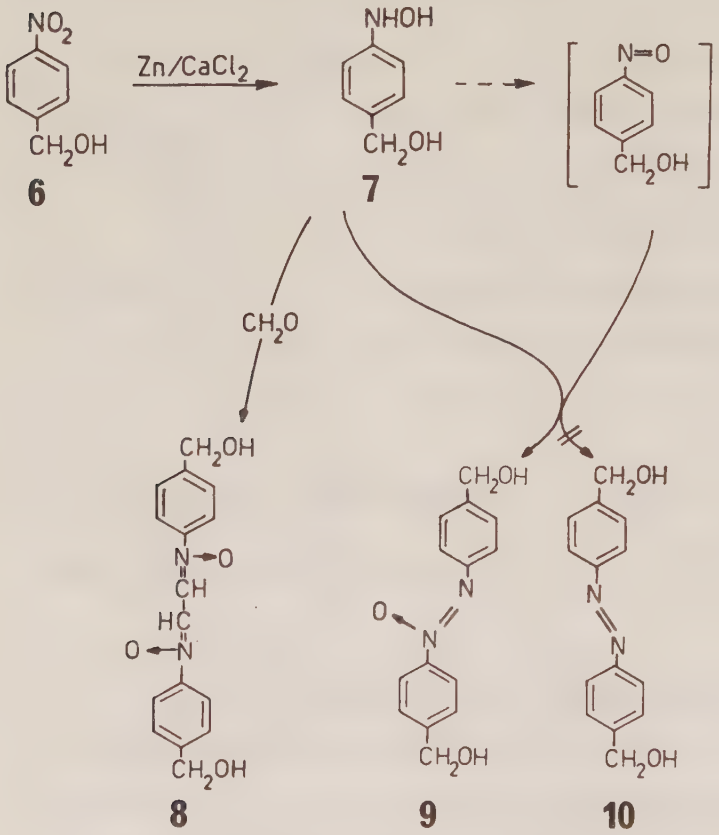
Auch hier zeigt die Lösung nach Zinkstaub-Behandlung

---

21) KALLE & Co., D.R.P. 87972 (21. Sept. 1895); C. 67, 1048 (1896)

22) E.BAMBERGER, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 36, 836 (1903)

eine positive TTC-Reaktion und gibt auf dem DC eine distinkte, ebenfalls mit TTC anfärbbare Zone.



6 **7** **8** **9** **10**

Der Nachweis des entstandenen Hydroxylamins **7** gelang durch Umsetzung mit Formaldehyd zum entsprechenden Bisnitron **8** . Beim Stehenlassen des Reduktions-Ansatzes fiel - analog zu **4** - 4,4'-Bis-(hydroxymethyl)-azoxybenzol (p-Azoxybenzylal-

kohol) (**9**) mit hohen Ausbeuten aus, während die Lösung TTC-negativ war.
Die Bildung des Azobenzylalkohols **10** konnte auch hier durch DC-Vergleich mit der authentischen Verbindung[23] ausgeschlossen werden.

So verhielten sich beide Modellsubstanzen vollkommen analog, was den Verlauf der Zinkstaub-Reduktion anbelangt: Beide bilden als Hauptreaktionsprodukte die entsprechenden Hydroxylamine **2** und **7**, die jedoch bei längerem Stehenlassen des Ansatzes mit den ebenfalls entstandenen Nitrosoprodukten zu den Azoxyverbindungen **4** und **9** kondensieren.

---

23) R.O.HUTCHINS, D.W.LAWSON, L.RUA, C.MILEWSKI und B.MARYANOFF, J. Org. Chem. 36, 803 (1971)

1.2. Untersuchung von Modellsubstanzen mit chlorsubstituierter Seitenkette ohne aromatische Nitrogruppe

Als Reduktionsmittel kann Zinkstaub u.a. auch enthalogenierend wirken, was teilweise präparativ genutzt wird[24].

Je nach Ausgangsverbindung und Reaktionsbedingungen kann das Halogen unter Bildung einer Doppel- oder Mehrfachbindung, oder aber reduktiv abgespalten werden.

Die Abspaltung wird um so leichter erfolgen, je lockerer das aliphatisch gebundene Halogen an den zugehörigen Kohlenstoff gebunden ist[24].

Die im ersten Schritt der Identitätsreaktion A für Chloramphenicol von Ph.Eur. vorgeschriebene Zinkstaub-Methode soll, wie die Modellversuche zeigten, lediglich zur Reduktion der Nitrogruppe zur Hydroxylaminstufe dienen.

Da im Chloramphenicol-Molekül jedoch zusätzlich eine dichlorsubstituierte Acetamid-Funktion vorhanden ist, mußte auch ein Angriff des Zinks auf das aliphatisch gebundene Halogen in Betracht gezogen werden.

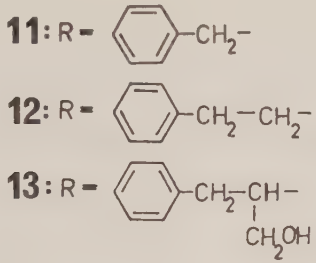
Um dies zu untersuchen, wurden drei Modellsubstanzen gewählt, die zwar die Dichloracetamid-Funktion in einer aliphatischen Seitenkette, jedoch keine aromatische Nitrogruppe aufwiesen.

So wurden die verschieden N-substituierten Dichloracetamid-Derivate **11**, **12** und **13** jeweils durch Umsetzung des betref-

---

24) HOUBEN-WEYL, Methoden der organischen Chemie, Bd.5/4, 4.Aufl., S.720 f., Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1960

fenden Amins mit Dichloracetylchlorid dargestellt[25]:



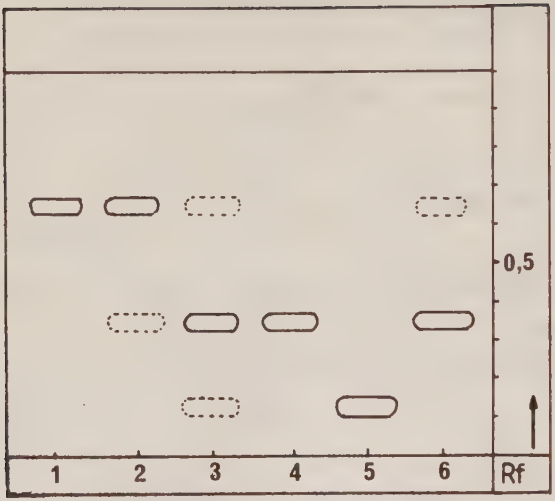
11 - **13** wurden zunächst unter exakt gleichen Bedingungen wie nach Ph.Eur. mit Zinkstaub umgesetzt, wobei der Reaktionsverlauf dc, bei **13** auch gc verfolgt wurde. Die entstehenden Produkte wurden, soweit möglich, isoliert und charakterisiert.

1.2.1. N-Benzyl-dichloracetamid (**11**)

Die zehnminütige Zinkstaub-Behandlung von **11** schien auf den ersten Blick das Molekül nicht verändert zu haben, denn nach Erkalten des Ansatzes fiel die Ausgangsverbindung fast quantitativ wieder aus. Auf dem DC (s. Abb. 1) war jedoch eine sehr schwache Zone mit niedrigerem R_f zu erkennen, die im DC der Mutterlauge stärker auftrat:

---

25) P.V.McKIE, J. Chem. Soc. 123, 2214 (1923)



Plattenmaterial:
Kieselgel 60 MERCK

Fließmittel:
Ethylacetat/Aceton
(90:10)

Detektion:
UV-Licht (254 nm)

1 = **11**
2 = **11** nach Zinkbehandlung nach Ph.Eur.
3 = **11** nach längerer Hitzebehandlung
4 = **14**
5 = **15**
6 = **11** nach Zink-Behandlung bei pH 4

Abb. 1: DC der Zinkstaub-Behandlung von **11** bei verschiedenen Reaktionsbedingungen

Im ^{1}H-NMR-Spektrum der ausgefallenen Substanz läßt sich im Vergleich zum Spektrum der Ausgangsverbindung die Andeutung eines Singuletts bei δ = 4,1 ppm (DMSO-d_6) erkennen. Da eine durch reduktive Abspaltung eines Chlors entstandene Monochloracetylgruppe die Methylenprotonen bei etwa 4 ppm er-

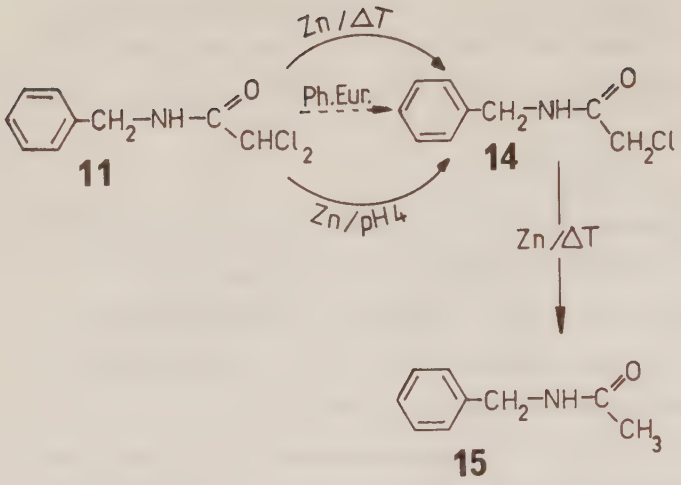
warten ließ, lag der Schluß nahe, daß geringe Mengen der Monochlorverbindung bereits vorlagen, was auch durch Verminderung der Lipophilie den geringeren R_f-Wert im DC erklären würde.

Um dies zu bestätigen, wurde

1. zum Vergleich die Monochlorverbindung **14** unabhängig durch Chloracetylierung des Amins dargestellt,
2. die Dichlorverbindung **11** unter energischeren Bedingungen (Temperaturerhöhung; längere Reaktionsdauer) der Zinkstaub-Behandlung ausgesetzt und
3. die zehnminütige Wasserbadbehandlung nach Ph.Eur. bei niedrigerem pH durchgeführt.

Nach längerer Reaktionsdauer (30 Minuten) bei erhöhter Temperatur (Siedetemperatur des Gemischs) zeigte sich auf dem DC (Abb. 1) eine deutliche Zunahme der durch Vergleichsauftragung gesicherten Monochloracetylverbindung **14**, während die Ausgangssubstanz fast vollkommen verschwunden war. Zusätzlich erschien eine dritte Zone wenig über dem Start, die exakt auf gleichem R_f lag, wie das zum Vergleich dargestellte N-Benzylacetamid (**15**).

Das ^{1}H-NMR-Spektrum des nach Einengen isolierten Chloracetamids **14** zeigte, wie erwartet, ein Zwei-Protonen-Singulett bei δ = 4,1 ppm (DMSO-d_6), während das Singulett der Dichloracetylgruppe bei δ = 6,5 ppm verschwunden war.



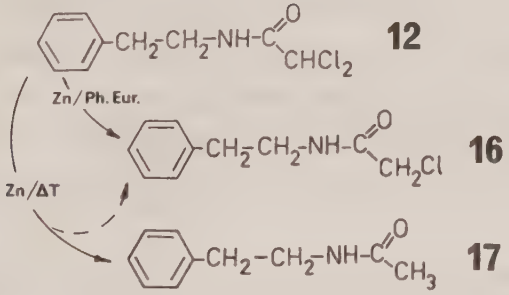
Die Änderung des pH-Wertes von 7 auf 4 durch Zusatz von Essigsäure bei sonst gleichbleibenden Bedingungen hatte den gleichen Einfluß wie die Erhöhung der Temperatur und Verlängerung der Reaktionsdauer: Auch hier wurde - beschleunigt durch die infolge pH-Senkung erhöhte reduktive Aktivität des Zinks - schon bei zehnminütiger Reaktionsdauer ein Chloratom abgespalten.

1.2.2. N-Phenethyl-dichloracetamid (12)

Der Reaktionsverlauf von **11** konnte auch bei **12** entsprechend beobachtet werden.

Unter normalen Ph.Eur.-Bedingungen ist im Vergleich zu **11** zwar eine stärkere, aber dennoch insgesamt nur eine geringfügige Chlorabspaltung festzustellen. Das durch Temperaturerhöhung vorwiegend entstandene Produkt war identisch mit der authentischen Monochlorverbindung **16**; auch hier gab die isolierte Methylengruppe im ^{1}H-NMR-Spektrum ein Signal bei δ = 4,1 ppm.

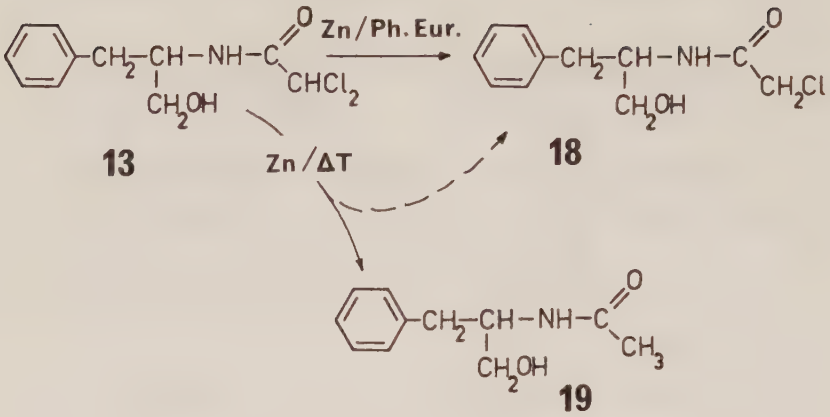
Durch vollkommene Enthalogenierung entsteht zusätzlich - je nach Reaktionsbedingungen in unterschiedlichem Ausmaß - das entsprechende Acetamid **17** .



1.2.3. N-(1-Hydroxymethyl-2-phenylethyl)-dichloracetamid (13)

Um festzustellen, ob eine Hydroxylgruppe am Molekül infolge des Effekts einer Nachbargruppe Einfluß auf die reduktive Chlorabspaltung hat, wurde auch **13** in die Untersuchungen einbezogen, das sich von Chloramphenicol nur durch die fehlende p-ständige Nitrogruppe sowie die Hydroxylgruppe in

2-Stellung unterscheidet.



Tatsächlich zeigte sich gegenüber **11** und **12** ein deutlicher Unterschied: Schon unter unveränderten Ph.Eur.-Bedingungen unterlag die Verbindung der Chlorabspaltung, und zwar in erheblich höherem Maße, als dies bei den anderen, nicht hydroxylgruppenhaltigen Modellsubstanzen der Fall gewesen war.

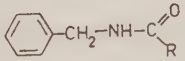
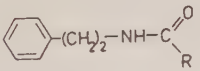
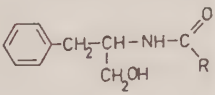
Auf dem DC ist danach Ausgangsverbindung und Monochlorverbindung **18** etwa im gleichen Verhältnis zu erkennen, wobei letztere gleiches Fließverhalten zeigte wie die separat dargestellte Chloracetyl-Verbindung **18**.

Da die Isolierung von **18** aus dem Arzneibuchansatz infolge ihrer sehr guten Löslichkeit im wäßrig-alkoholischen Milieu nicht zufriedenstellend möglich war, wurden die einzelnen Verbindungen in Lösung gaschromatographisch mit gleich-

zeitiger massenspektroskopischer Analyse (GC/MS) identifiziert. Dabei gaben Mischinjektionen mit den jeweiligen authentischen Verbindungen stets nur einen Peak im Chromatogramm. Das Verhältnis von Di- zu Monochlorverbindung konnte dabei auf annähernd 1:1 festgelegt werden.

Setzt man **13** im Arzneibuchansatz längerer Hitzebehandlung aus, so ist sie anschließend zugunsten der Monochlor- sowie der vollständig enthalogenierten Verbindung **19** verschwunden, wobei letztere deutlich überwiegt.

Die Ergebnisse aus den drei Modellversuchen zusammenfassend, können folgende Aussagen gemacht werden (Tab. 1):

Ausgangsverbindg.	R	Produkte nach Behandlung		
		Ph. Eur.	ΔT	H^+
 **11**	$CHCl_2$	++	+	+
	CH_2Cl	(+)	+	+
	CH_3	-	(+)	-
 **12**	$CHCl_2$	++	+	+
	CH_2Cl	+	++	+
	CH_3	-	(+)	-
 **13**	$CHCl_2$	+	-	+
	CH_2Cl	+	++	+
	CH_3	(+)	+	(+)

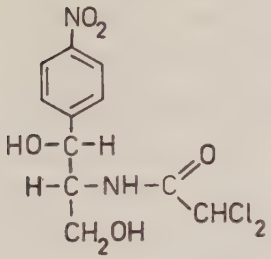
R = $CHCl_2$

++ = über 50%
+ = unter 50%
(+) = in Spuren
- = nicht vorhanden

Tab. 1: Einfluß der Zinkstaub-Behandlung nach Ph.Eur. und unter energischeren Bedingungen auf die Modellsubstanzen **11**, **12** und **13**

Innerhalb der Verbindungs-Reihe **11** - **12** - **13** ist eine steigende Tendenz zur Chlorabspaltung gegeben, wenn diese nach Ph.Eur. mit Zinkstaub behandelt werden.
Während bei **11** Enthalogenierung nur in Spuren zu finden ist, geht der reduktive Angriff des Zinks bei **12** schon weiter. Die jeweilige Monochlorverbindung ist jedoch bei beiden erst in nennenswerten Mengen nach energischeren Reaktionsbedingungen (Temperatur; pH) faßbar.
Bei **13** dagegen tritt die Chlorabspaltung offensichtlich infolge des Einflusses der Hydroxylgruppe schon weit eher ein, so daß bereits beträchtliche Mengen der Monochlorverbindung **18** vorliegen. Temperaturerhöhung und Verlängerung der Reaktionsdauer bedingen die gänzliche Entchlorierung und Bildung des entsprechenden Acetamids **19** .

1.3. Untersuchungen mit Chloramphenicol



20

Wie unsere Modellversuche gezeigt haben, wird durch die von Ph.Eur. vorgeschriebene Zinkstaubreduktion sowohl die aromatische Nitrogruppe als auch die Dichloracetamid-Funktion angegriffen.

Inwieweit dies nun auch für Chloramphenicol (**20**) zutrifft, d.h. welche chemischen Veränderungen vor der anschließenden Benzoylierung (vgl. 2.2.) stattfinden, sollten entsprechende Versuche zeigen.

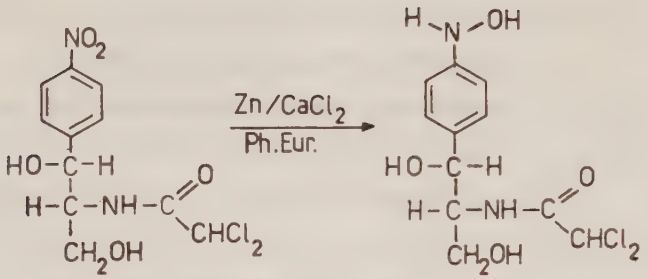
Um die Reaktionsdurchführung zu vereinfachen sowie die Isolierung von Reaktionsprodukten zu ermöglichen, wurden die von Ph.Eur. vorgeschriebenen Mengen verhundertfacht, so daß stets mit einem Gramm Chloramphenicol gearbeitet wurde. So konnten auch bessere quantitative Aussagen gemacht werden.

1.3.1. Bildung des Hydroxylamins

Wird die Zinkstaub-Reduktion nach Ph.Eur. mit Chloramphenicol (**20**) durchgeführt, so entsteht zunächst eine deutliche Gelbfärbung der zuvor fast farblosen Ansatzlösung.

Analog zu den Modellsubstanzen **1** und **6** (vgl. 1.1.1. und 1.1.2.) gab auch hier die Lösung eine deutliche Rotfärbung mit TTC, was auf gebildetes "Chloramphenicol-

Hydroxylamin" (**21**) hinwies.



20 **21**

Eine Isolierung des Hydroxylamins indes gelang - wohl insbesondere wegen dessen guter Wasserlöslichkeit und verhältnismäßig schlechter Beständigkeit (TTC-Reaktion nur kurzzeitig positiv!) - nicht. Auch die Umsetzung mit Formaldehyd zum Bisnitron analog **3** und **8** versagte.
Der Beweis der Hydroxylaminstruktur konnte schließlich jedoch durch N-Benzoylierung zur Benzhydroxamsäure **40** erbracht werden (vgl. 2.2.1.).

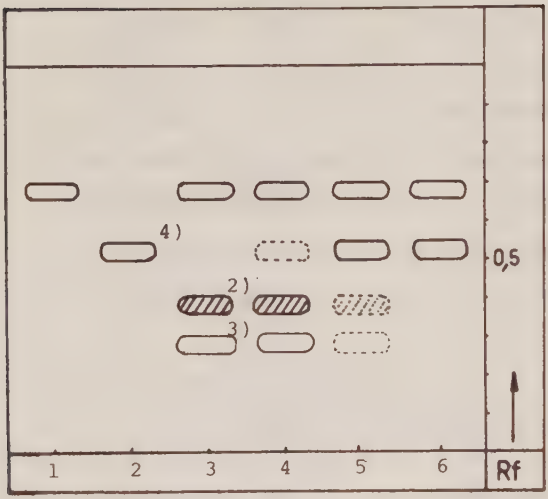
1.3.2. Bildung von Azoxyprodukten

Wie bei den Modellsubstanzen **1** und **6** , bei denen nach beendeter Zinkstaub-Reduktion stets die zugehörigen Azoxyverbindungen **4** und **9** ausfielen, war auch bei Chloramphenicol ein entsprechendes Produkt zu erwarten.
Nach Entfernen des Zinkstaubs trat jedoch selbst nach Er-

kalten der Lösung keine Kristallisation auf, wie sie bei den Modellversuchen spontan eingetreten war.
Da es wahrscheinlich erschien, daß das eventuell entstandene Azoxyprodukt aufgrund einer guten Ethanol-Löslichkeit nicht ausfiel, wurde die inzwischen gelb gefärbte Lösung auf zwei Drittel eingeengt, so daß der Alkohol weitgehend entfernt wurde.
Nach Stehenlassen der Lösung über drei Tage bei Raumtemperatur trat dann Absetzen einer in langen Nadeln kristallisierenden Verbindung ein, die durch längeres Stehenlassen in der Menge nicht mehr zunahm. Nach Abtrennen und Trocknen waren ca. 10 Prozent, bezogen auf die Chloramphenicol-Einwaage, ausgefallen.
Das DC zeigte eine einheitlich gelb gefärbte Zone, die auch noch schwach in der Mutterlauge zu finden war (s. Abb. 2).
Trägt man direkt aus der vom Zink befreiten Ansatzlösung in bestimmten Zeitabständen auf (beginnend kurz nach der Wasserbadbehandlung), so läßt sich eine ständige Zunahme der besagten Zone feststellen, während gleichzeitig die Hydroxylamin-Zone in gleichem Maße abnimmt.
Daraus läßt sich schließen, daß mit der Zeit eine Azoxyverbindung durch Kondensation aus ebenfalls entstandener Nitrosoverbindung und der Hydroxylaminkomponente gebildet wird, wodurch die Ausgangsverbindungen verbraucht werden.

Chromatographiert man dagegen die isolierte Verbindung **22** in weniger polaren Fließmitteln (z.B. Aceton),

so wird eine Auftrennung in zwei etwa gleich starke, gelb gefärbte Zonen sichtbar:



Plattenmaterial:
Kieselgel 60 MERCK

Fließmittel:
Chloroform/Methanol
(80:20)

Detektion:
1) UV-Licht (254 nm)
2) TTC-Lösung: rot
3) Ehrlichs Reag.:gelb
4) Eigenfarbe: gelb

1 = Chloramphenicol
2 = isolierte Azoxyverbindung
3 = Ansatzlösung nach Ph.Eur.-Behandlung
4 = Ansatzlösung nach Ph.Eur.-Behandlung und 3 Std. Stehen
5 = Ansatzlösung nach Ph.Eur.-Behandlung und 1 Tag Stehen
6 = Ansatzlösung nach Ph.Eur.-Behandlung und 3 Tagen Stehen

Abb. 2: DC der nach Zinkstaub-Behandlung nach Ph.Eur. aus Chloramphenicol entstandenen Produkte

Die Annahme, daß es sich dabei um ein Gemisch zweier Azoxy-Verbindungen handeln könnte, wurde durch das ^{1}H-NMR-Spektrum erhärtet: Neben den zu erwartenden Signalen für die

Chloramphenicol-Protonen[26,27] (Abb. 3) tritt zusätzlich ein Singulett bei δ = 4,03 ppm auf (Abb. 4), während für die Dichloracetylprotonen zwei eng beieinanderliegende Singuletts bei δ = 6,52 und 6,54 ppm ausgewiesen werden.

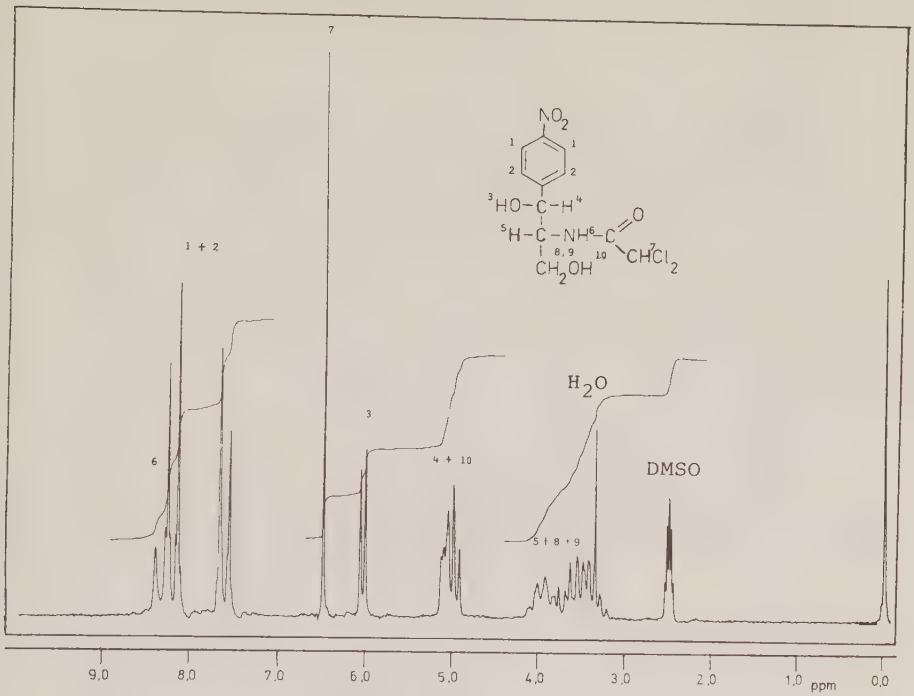


Abb. 3: ^{1}H-NMR-Spektrum von Chloramphenicol in DMSO-d_6 (80 MHz)

---

26) A.F.CASY, PMR-Spectroscopy in Medical and Biological Chemistry, S.256, Academic Press, London 1971

27) M.KRAFT, Struktur- und Absorptionsspektroskopie organischer Naturstoffe, S.302 f., D.Steinkopff-Verlag, Darmstadt 1976

Abb. 4: ^{1}H-NMR-Spektrum des Gemischs **22** und dessen Einzelkomponenten **22a** und **22b** (DMSO-d_6; 80 MHz)

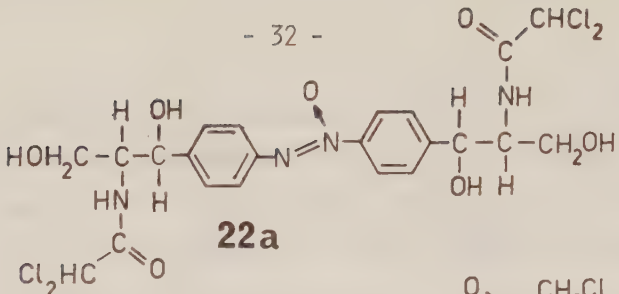
Dabei könnte das doppelte Erscheinen der übrigen Protonensignale (gut sichtbar bei der 1-Hydroxylgruppe zwischen δ = 5,75 und 6,0 ppm) sowohl durch die geringfügige Molekülasymmetrie, bedingt durch den Azoxysauerstoff, als auch durch das Auftreten zweier sehr ähnlicher Verbindungen erklärt werden.

Das Singulett bei $\delta \simeq 4$ ppm indes erinnerte an die bei den Modellversuchen (1.2.), durch Zinkeinwirkung entstandenen Monochloracetyl-Verbindungen, deren Methylengruppe praktisch die gleiche chemische Verschiebung aufwies.

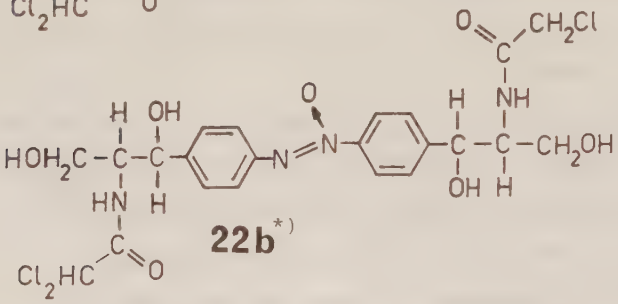
Daß auch bei Chloramphenicol unter den Bedingungen der Ph.Eur. partiell eine Chlorabspaltung stattgefunden haben könnte, wäre nicht überraschend gewesen; unverständlich war jedoch zunächst das Protonenverhältnis von Dichlor- zu Monochloressigsäure-Protonen, das fast genau 3:2 betrug, wenn man die doppelte Zahl der Aromatenprotonen, nämlich 16 H, zugrunde legt.

Dies war nur erklärlich, wenn man bei der Azoxyverbindung **22** von einem 1:1-Gemisch eines "Azoxy-Chloramphenicols" **22a** (zweifache Dichlorsubstitution) und einer analogen Azoxyverbindung **22 b** , die jedoch jeweils eine Dichlor- und eine Monochloracetyl-Funktion trägt, ausgeht.

Dafür sprach auch die Elementaranalyse, die für diese Zusammensetzung exakt stimmte.



22a



22b*)

Um die Annahme, daß es sich um ein Gemisch handeln könnte, zu bekräftigen, wurde

1. Chloramphenicol mit Zinkstaub unter energischeren Bedingungen umgesetzt,
2. eine sc Trennung und anschließende Charakterisierung der beiden Verbindungen durchgeführt und
3. mittels katalytischer Hydrierung eine Abspaltung aller Chloratome zu zwei einheitlichen Substanzen vorgenommen.

---

*) Die Position des Azoxysauerstoffs in **22b** ist nicht mit Sicherheit zuzuordnen. Nur bei wenigen Substanzen mit Modellcharakter konnte bisher eine Festlegung durch Röntgenstrukturanalyse vorgenommen werden (vgl. L.HOESCH und H.WEBER, Helv. Chim. Acta 60, 3015 [1977]). Auszugehen ist im vorliegenden Fall jedoch - allein schon aus statistischen Gründen - von einem Gemisch beider Isomere. Dafür spricht auch das ^{1}H-NMR-Spektrum, bei dem sowohl das Dichlor- als auch das Monochloracetylprotonen-Signal aufgespalten erscheint, was u.a. durch die unterschiedliche Position des Azoxysauerstoffs zu den jeweiligen chlorsubstituierten Acetylgruppen erklärt werden kann.

Zu 1.)

Wie bei den Modellversuchen (1.2.) wurde auch Chloramphenicol im sonst unveränderten Ph.Eur.-Ansatz einer 30-minütigen Zinkstaubbehandlung bei Siedetemperatur ausgesetzt.

Aus dieser Lösung kristallisiert, auch nach Einengen und längerem Stehenlassen, kein Produkt. Das DC zeigt eine deutliche Abnahme der Zone im oberen R_f (Bis-Dichlorverbindung **22a**) zugunsten des Monochlor/Dichlor-Produkts **22b**. Zudem erscheint noch eine dritte Zone mit R_f um 0,15, die sehr wahrscheinlich einer durch weitere Chlorabspaltung entstandenen Verbindung zuzuordnen ist.

Zu 2.)

Im Gemisch Ethanol/Ether (15:95) wurde ein Fließmittel gefunden, das eine säulenchromatographische Trennung des Azoxy-Gemischs **22** erlaubte.
Die IR-Spektren der zwei getrennten Produkte unterschieden sich untereinander und im Vergleich zum Gemisch-Spektrum kaum, was aufgrund der geringen anzunehmenden Abweichungen bei relativ großen Molekülen auch nicht überrascht. Lediglich im fingerprint-Bereich, bei $\tilde{\nu}$ = 810 cm^{-1}, ist bei **22a** eine schärfere Bande zu erkennen, die wohl der aliphatischen Chlorsubstitution zugeordnet werden kann.

In den ^{1}H-NMR-Spektren der einzelnen Gemisch-Komponenten (s. Abb. 4) sind dagegen deutliche Unterschiede zu erkennen: Während die lipophilere Verbindung **22a** le-

diglich zwei Singuletts bei $\delta = 6{,}62$ und 6,54 ppm (DMSO-d_6) aufweist, welche genau zwei Methinprotonen der Dichloracetylgruppen entsprechen, zeigt das Spektrum der Verbindung mit geringerem R_f-Wert (**22b**) sowohl ein Dichloressigsäure-Proton zwischen δ = 6,52 und 6,54 ppm als auch ein schwach angespaltenes Signal für die Methylenprotonen der Monochloracetylgruppe bei δ = 4,02 ppm.
Das ^{13}C-NMR-Spektrum des Gemischs weist in DMSO-d_6 ein gegenüber den bekannten Kohlenstoffkernen des Chloramphenicols zusätzliches - wie sich im off-resonance-Spektrum zeigte - sekundäres C-Atom mit einer Zentralfrequenz von δ = 42,52 ppm im ND-Spektrum auf, während der tertiäre Kohlenstoff der Dichloressigsäuregruppe stets zwischen δ = 69 und 70 ppm zur Resonanz kommt.

Zu 3.)

Daß organisch gebundenes Halogen mit Hilfe von Palladium-, Platin- oder Nickel-Katalysatoren gegen Wasserstoff ausgetauscht werden kann, ist seit langem bekannt[28,29] und wurde auch bei eigenen Versuchen beobachtet.
Sollte es gelingen, das Halogen auf diese Weise quantitativ zu entfernen, so müßten im Falle des lediglich durch un-

---

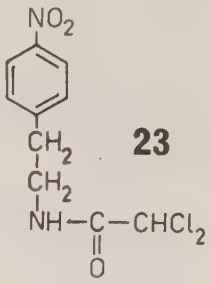
28) F.ZYMALKOWSKI, Katalytische Hydrierungen, S.157 f., Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart 1965

29) P.N.RYLANDER, Catalytic Hydrogenation in Organic Synthesis, Academic Press, New York City 1979

terschiedliche Chlorsubstitution verschiedenen Gemischs **22a/b** zwei identische Verbindungen entstehen.

Da von dem zu untersuchenden Gemisch nur geringe Mengen zur Verfügung standen, wurden zunächst Vorversuche mit anderen dichlorsubstituierten Verbindungen unternommen, um geeignete Bedingungen für eine quantitative Enthalogenierung zu ermitteln.

Dazu wurde N-(4-Nitrophenethyl)-dichloracetamid (**23**) sowie Chloramphenicol (**20**) selbst ausgewählt, um gleichzeitig das Verhalten der aromatischen Nitrogruppe unter den jeweiligen Bedingungen zu beobachten.

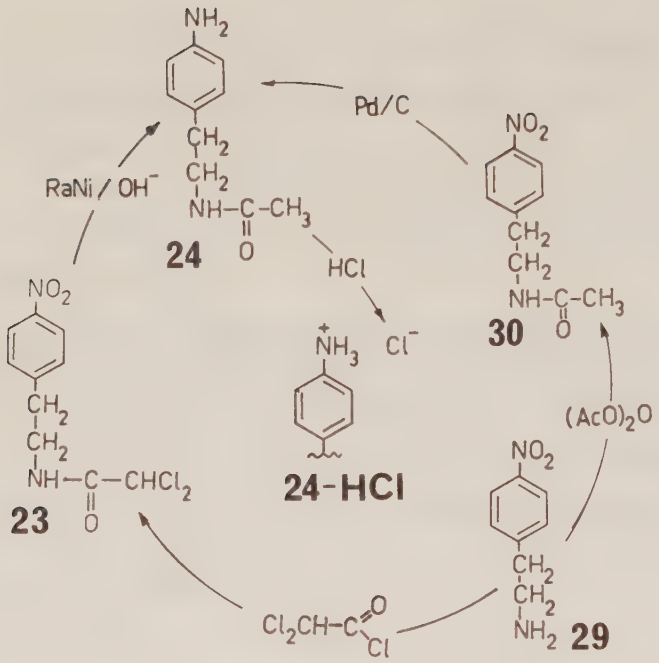


23

Mit Palladium/Kohle (Pd/C) als Katalysator in neutraler ethanolischer Lösung erfolgte bei beiden Substanzen zwar relativ schnell eine vollständige Reduktion der aromatischen Nitrogruppe zum Amin, die Chlorabspaltung verlief jedoch nicht quantitativ. Es waren deutliche Mengen der Monochlorverbindungen entstanden, die vollkommen enthalogenierten jedoch nur in Spuren.

Raney-Nickel als Katalysator brachte weit bessere Ergebnisse, insbesondere dann, wenn unter Zusatz von Alkali hydriert wurde[28].

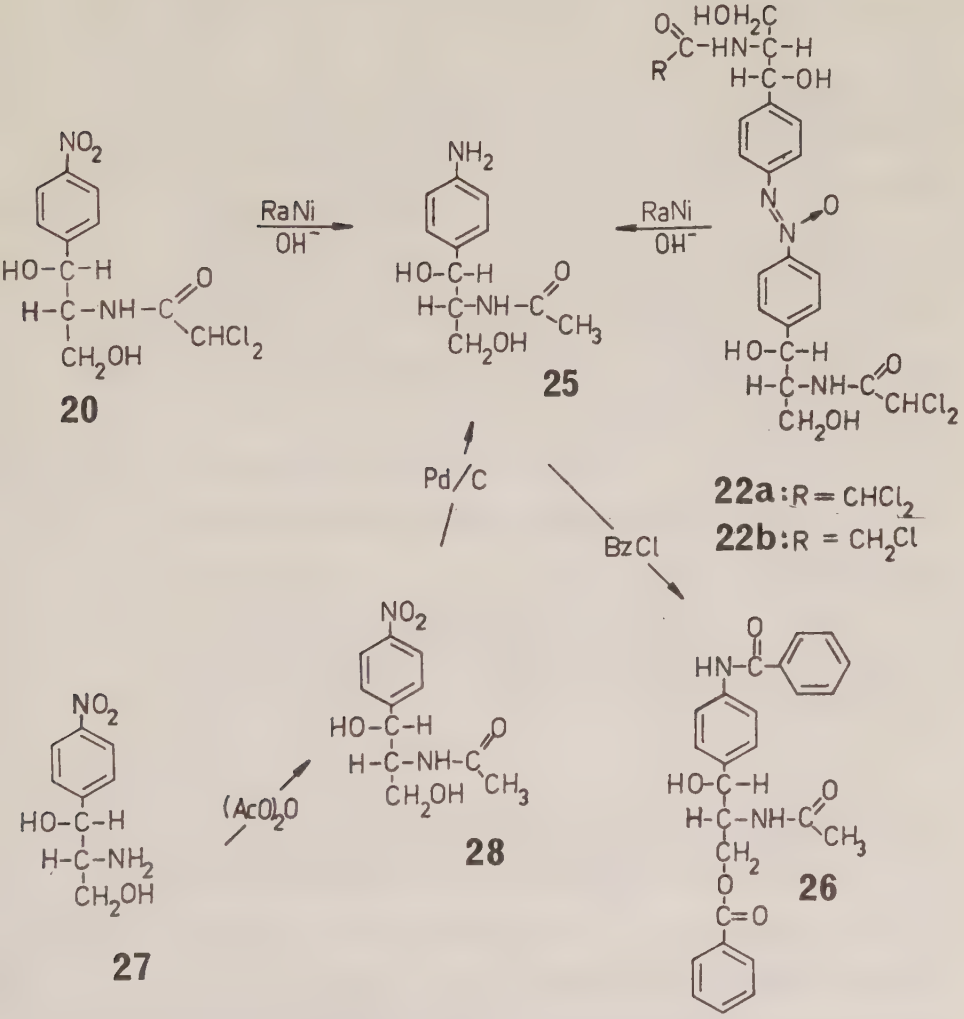
So wurde bei **20** und **23** nach Zusatz einer der bei der Reaktion freiwerdenden Salzsäure äquivalenten Menge Natronlauge genau die berechnete Menge Wasserstoff (fünf Mol für Enthalogenierung und Reduktion der Nitrogruppe) aufgenommen.



Das DC wies jeweils einheitliche, im R_f deutlich niedrigere Substanzzonen auf, die mit den mitaufgetragenen, unabhängig dargestellten Acetylderivaten **24** und **25** gleiches Laufverhalten zeigten.

Die Isolierung und Charakterisierung der enthalogenierten Verbindungen erfolgte beim Amin **24** als dessen Hydrochlorid **24-HCl**, beim aus Chloramphenicol hervorgegangenen Amin **25** dagegen, da keine Kristallisation erzielt werden konnte, als dessen Dibenzoylderivat **26**, das mit authen-

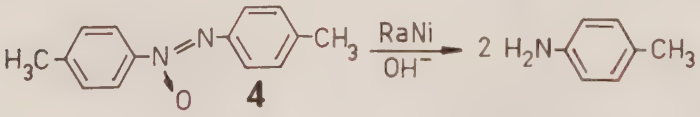
tischem, durch Reduktion des N-acetylierten "Nitroamino-diols" **27** *) dargestelltem identisch war.



*) Für die freundliche Überlassung der Substanz danke ich der Firma Boehringer Mannheim

Somit waren die Bedingungen für eine quantitative Chlorabspaltung durch katalytische Hydrierung gefunden, der nun auch die beiden Azoxyverbindungen **22a** und **22b** unterzogen wurden.
Die gelbe Ansatzlösung hatte sich schon nach kurzer Hydrierzeit entfärbt, was bereits zu diesem Zeitpunkt auf eine Zerstörung der stets farbgebenden Azoxystruktur hinwies. Dies wurde dc bestätigt:Es war eine einheitliche Substanz entstanden, die identisch war mit der durch katalytische Hydrierung von Chloramphenicol entstandenen Verbindung **25**. Nach Isolierung konnte diese durch Benzoylierung als Dibenzoylderivat **26** identifiziert werden.

Es mußte somit durch die gewählten Hydrierbedingungen die Azoxystruktur ebenfalls angegriffen und zum aromatischen Amin **25** reduziert worden sein.



4

Ein Versuch unter gleichen Bedingungen mit p-Azoxytoluol (**4**) bestätigte den Reaktionsverlauf durch Bildung von p-Toluidin.

Insgesamt haben die Experimente damit klar bewiesen, daß sich die aus dem Ph.Eur.-Ansatz nach Zinkstaubbehandlung und Stehenlassen der Reaktionslösung auskristallisierenden Verbindungen **22a** und **22b** lediglich in ihrer Chlorsubstitu-

tion an der Acetamid-Seitenkette unterscheiden.

Um sicherzustellen, daß die Reduktion nach Ph.Eur. die beschriebenen Azoxy- und nicht etwa Azoverbindungen liefert, wurde versucht, zum Vergleich die entsprechende Azoverbindung sowohl direkt aus Chloramphenicol als auch durch Reduktion (Desoxygenierung) der vorhandenen Azoxyverbindungen darzustellen.
Da die Chloramphenicol-Literatur hierfür keine Hinweise lieferte, mußte auf allgemeine Darstellungsweisen zurückgegriffen werden[30], von denen viele jedoch wegen ihrer drastischen Reaktionsbedingungen (stark alkalisches Milieu; hohe Temperaturbelastung) das verhältnismäßig labile Chloramphenicol-Molekül angegriffen und zumindest starke Veränderungen an der Dichloracetamid-Funktion verursacht hätten.
Eine der wenigen in Frage kommenden Darstellungsweisen, die Oxidation des zum Amin reduzierten Chloramphenicols mit Natriumperborat in Eisessig[20] (vgl. 1.1.1.1.) führte jedoch nicht zum gewünschten Produkt.
Ebenso mißlang die zur Darstellung von Azobenzylalkohol (**10**) hervorragend geeignete Methode der Borhydrid-Reduktion der entsprechenden Nitroverbindung in DMSO[23], die zu 82 proz. Ausbeute führte, während KNABE[31] auf anderem Wege

---

30) HOUBEN-WEYL, Methoden der organischen Chemie, Bd. 10/3, 4.Aufl., S.332, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1965

31) J.KNABE und R.KRÄUTER, Arch. Pharm. (Weinheim) 296, 204 (1963)

nur 10 % erhalten konnte.

Auch die Möglichkeit, die Azoverbindung durch reduktive Entfernung des Azoxy-Sauerstoffs aus der Azoxyverbindung zu erhalten, war wegen der zu erwartenden Nebenreaktionen begrenzt[32].

Die bisweilen mit wechselndem Erfolg durchgeführte katalytische Reduktion von Azoxy- zu Azoverbindungen[33,34] führte hier sofort zu den aromatischen Aminoverbindungen.

So blieb lediglich als Möglichkeit, die Azoxyprodukte auf geeignete Weise zu spalten und eine Verbindung mit Azoxy-Struktur als Spaltprodukt nachzuweisen.

Dazu bot sich die Spaltung von Kohlenstoff-Kohlenstoff-Bindungen mit Natriummetaperiodat an, die nicht nur bei vicinalen Diolen (MALAPRADE-Reaktion[35]), sondern auch bei α-Aminoalkoholen durchführbar ist[36].

Da die Reaktion bei N-acylierten Aminoalkoholen jedoch versagt[37], mußten bei **22a** und **22b** zunächst die verschieden chlorsubstituierten Acetamid-Funktionen verseift werden. Dies geschah durch saure Hydrolyse gemäß REBSTOCK et. al.[38]

---

32) S.PATAI, The Chemistry of the Hydrazo-, Azo- and Azoxy-Group, S.615, John Wiley & Sons, New York 1975

33) E.C.BLOSSEY und A.CORLEY, J. Chem. Soc. Chem. Commun. 1972, 895

34) P.RUGGLI und G.BARTUSCH, Helv. Chim. Acta 27, 1397 (1944)

35) L.MALAPRADE, Bull. Soc. Chim. Fr. 1928, 638

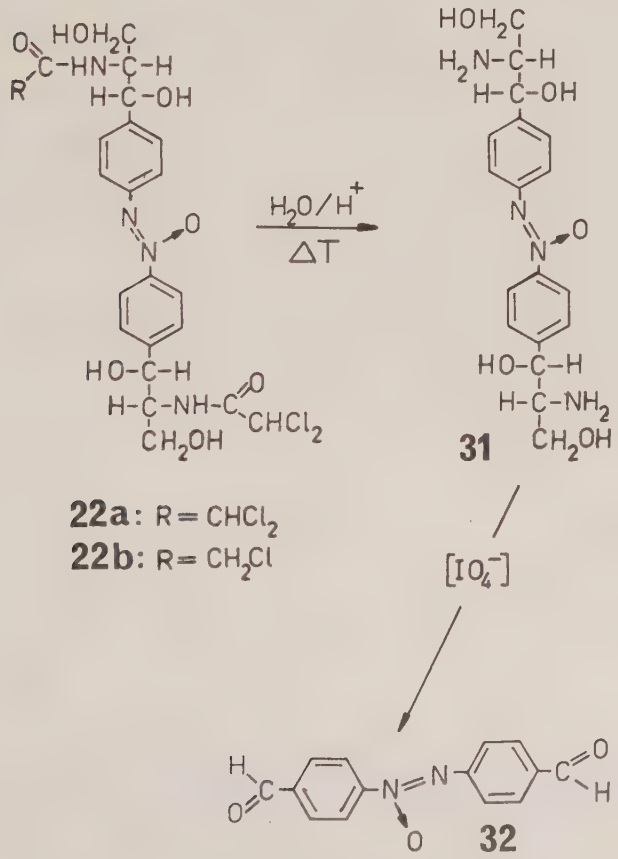
36) B.SKLARZ, Quart. Rev. 21, 3 (1967)

37) P.FLEURY, J.COURTOIS und M.GRANDCHAMP, Bull. Soc. Chim. Fr. 1949, 88

38) M.C.REBSTOCK, H.M.CROOKS, Jr., J.CONTROULIS und Q.R.BARTZ, J. Am. Chem. Soc. 71, 2460 (1949)

in wäßriger Suspension. Die nach erfolgter Verseifung nunmehr einheitliche, gelöst vorliegende Azoxyverbindung wurde ohne Isolierung nach Neutralisieren mit Natriummetaperiodat versetzt.

Die zu erwartende Reaktion hätte nach folgendem Schema pro Mol Azoxyverbindung **31** ein Mol Azoxybenzaldehyd (**32**) liefern müssen:



Tatsächlich bildete sich durch Stehen des Ansatzes über Nacht ein gelber, kristalliner Niederschlag, der sowohl dc als auch IR-spektroskopisch mit unabhängig dargestelltem Azoxybenzaldehyd[39] (**32**) identisch war.

Das Vorliegen - auch in geringen Mengen - von Azobenzaldehyd (**33**) konnte eindeutig schon auf dem DC mit Chloroform als Fließmittel sowie durch Elementaranalyse von **32** ausgeschlossen werden.

Eine Oxidation der eventuell primär vorgelegenen Azo- zur Azoxyverbindung durch überschüssiges Periodat war, wie analoge Versuche ergaben, unter den Durchführungsbedingungen nicht möglich, so daß der isolierte Azoxybenzaldehyd ohne Zweifel nur aus der nachzuweisenden, aus Chloramphenicol entstandenen Azoxyverbindung **31** stammen konnte.

Durch Abtrennen und Ausschütteln der noch im Periodat-Ansatz gelösten Restmengen konnten 75 Prozent der theoretisch entstandenen Menge an Azoxybenzaldehyd isoliert werden.

---

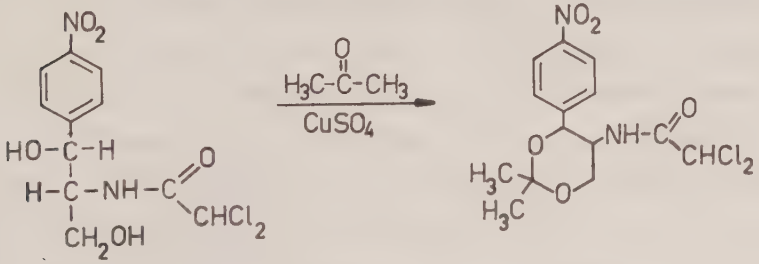
39) A.KIRPAL, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 30, 1598 (1897)

1.4. Untersuchungen mit Chloramphenicol-Acetonid

Um das Chloramphenicol-Molekül lipophiler zu machen und damit eine bessere Isolierung entstehender Verbindungen aus vorwiegend wäßrigem Milieu zu ermöglichen, wurden die beiden Hydroxyl-Funktionen mit Aceton zum Acetonid **34** ringgeschlossen, ein Verfahren, wie es bereits für Vorstufen der Chloramphenicol-Synthese nach Boehringer Mannheim [40] zur Anwendung kommt.

1.4.1. Darstellung

In Abwandlung eines Verfahrens von PARKE DAVIS[41], bei dem das Acetonid mit Hilfe von Phosphorpentoxid als Dehydratisierungsmittel aus dem D-threo-Enantiomeren des Chloramphenicols (**20**) dargestellt wird, wurde das besser handzuhaben-



20 **34**

---

40) A.KLEEMANN, Pharmazeutische Wirkstoffe, S.84, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1978

41) PARKE DAVIS & Co (Erf. A.C.MOORE), US-Pat. 2.568.555 (18. Sept. 1951); C.A. 46, 3574e (1951)

de wasserfreie Kupfersulfat eingesetzt, wie es von BOEHRINGER MANNHEIM[42,43] für die Darstellung einer Chloramphenicol-Vorstufe empfohlen wird.
Das so in hoher Ausbeute und Reinheit zu erhaltende Acetonid **34** konnte IR-, NMR- und massenspektroskopisch identifiziert und charakterisiert werden.

1.4.2. Bildung von Azoxyprodukten

Das zu erwartende Ausfallen von Chloramphenicol-analogen Azoxyprodukten **35** nach Umsetzung von **34** mit Zinkstaub nach Ph.Eur. trat auch hier unter Verschwinden der TTC-Reaktion sehr rasch nach Erkalten der Ansatzlösung ein.

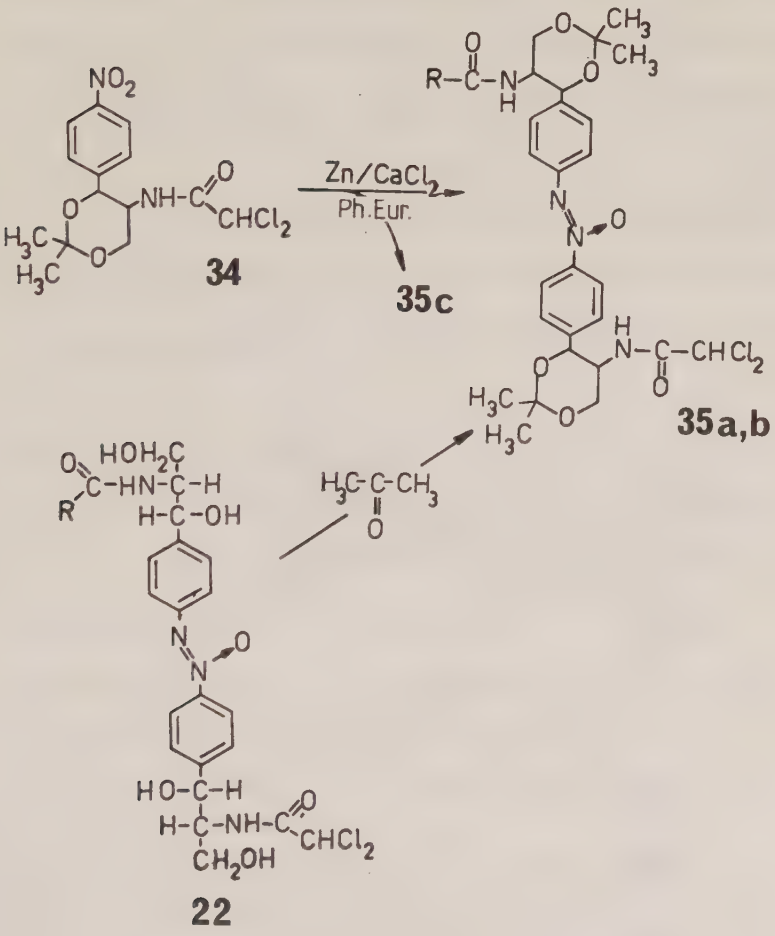
Ein DC zeigte, daß der Niederschlag aus insgesamt drei Substanzen (**35a, b, c**) bestand.
Da die Annahme nahe lag, daß die Unterschiede lediglich auf die Chlorsubstitution an der Acetamid-Funktion zurückzuführen waren, wurden zum Vergleich die aus Chloramphenicol durch Zinkstaubbehandlung erhaltenen Azoxyverbindungen **22a** und **22b** mit Aceton/Kupfersulfat in ihre Acetonide überführt. Dabei stellte sich heraus, daß im DC die Zonen der

---

42) BOEHRINGER MANNHEIM (Erf. O.ONNEN, W.PESCHKE und E.RABALD), D.B.P. 870857 (3. Mai 1951)

43) BOEHRINGER MANNHEIM , Engl.Pat. 707193 (14. April 1954); C.A. 49, 10384d (1954)

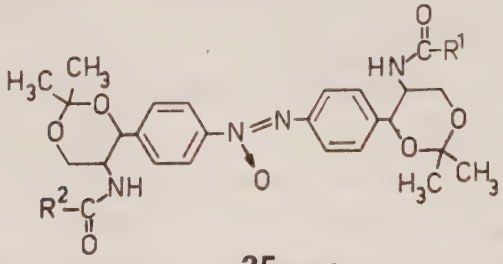
beiden lipophileren Substanzen **35a,b** aus der Reduktion des Chloramphenicol-Acetonids **34** identisch waren mit den nachträglich acetalisierten Azoxyverbindungen **22a,b**.



Da es gelang, das Dreiergemisch säulenchromatographisch zu trennen, konnten die einzelnen Komponenten IR- und NMR-spektroskopisch identifiziert werden.

Dabei zeigte sich, daß im ersten Falle das "Azoxy-Acetonid" **35a** mit unveränderter Dichloracetamid-Funktion (zwei Singuletts bei δ = 6,54 und 6,56 ppm; DMSO-d_6) vorlag, die zweite Substanz **35b** sowohl dichlor- als auch monochlorsubstituiert war und die dritte, **35c**, nur noch Monochloracetylgruppen trug (δ = 3,95 ppm).

Die Elementaranalysen (einschließl. Chlorbestimmung) der kristallin erhaltenen Verbindungen zeigten so geringe Abweichungen von den errechneten Werten, daß das Vorliegen einer Azoverbindung eindeutig ausgeschlossen werden konnte.



35a-c

	R^1	R^2	Schmp.
35a	$CHCl_2$	$CHCl_2$	233°C
35b *)	$CHCl_2$	CH_2Cl	220°C
35c	CH_2Cl	CH_2Cl	111°C

*) vgl. Fußnote S. 32

Zusammenfassend kann man sagen, daß im ersten Teil der Arzneibuchreaktion die aromatischen Nitroverbindungen mit Hilfe von Zinkstaub vorwiegend zum Hydroxylamin reduziert werden.
Zusätzlich findet ein reduktiver Angriff an der Dichloracetamid-Funktion statt, wobei je nach Reaktionsbedingungen mehr oder weniger Chloratome abgespalten werden.

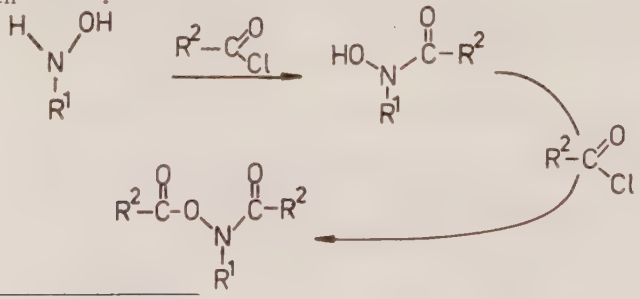
Unterläßt man die weitere Umsetzung mit Benzoylchlorid und läßt den Reduktionsansatz längere Zeit stehen, so fallen Azoxyverbindungen aus, die in der Regel aus Nitroso- und Hydroxylamin-Komponenten gebildet werden. Die auf Hydroxylaminverbindungen ansprechende TTC-Reaktion fällt danach negativ aus.
Die Bedingungen der Ph.Eur. führen bei Chloramphenicol zufällig zu einem annähernden 1:1-Gemisch zweier verschieden chlorsubstituierter Azoxyverbindungen, die nach längerem Stehen zusammen als Mischkristalle kristallisieren.
Verändert man die Bedingungen, so wirkt sich das ausschließlich auf die chlorsubstituierte Seitenkette, nicht jedoch auf die aromatische Nitrogruppe aus.

2. Umsetzung der reduzierten Nitroverbindungen mit Natriumacetat / Benzoylchlorid nach Ph.Eur.

Der zweite Teil der Arzneibuchreaktion sieht die Umsetzung des durch Zinkstaub-Reduktion aus der Nitroverbindung entstandenen Hydroxylamins mit Natriumacetat und Benzoylchlorid vor. Beim anschließenden Zusatz von Eisen(III)-chlorid-Lösung und Salzsäure soll eine rotviolette Färbung entstehen.

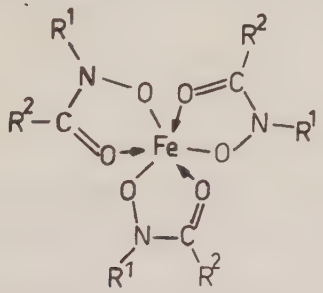
Aus Hydroxylaminen und Säurechloriden entstehen in der Regel durch N-Acylierung N-Acyl-Hydroxylamine, die Hydroxamsäuren[44-46].

Die Reaktion wird üblicherweise im Wäßrigen durchgeführt (SCHOTTEN-BAUMANN-Acylierung). Bei Acylierungen in Pyridin Base dagegen ist mit einer zusätzlichen O-Acylierung zu N,O-Bisacylhydroxylaminen oder O-Acylhydroxamsäuren zu rechnen[46,47].



44) H.YALE, Chem. Rev. 33, 209 (1943)
45) L.BAUER und O.EXNER, Angew. Chem. 86, 419 (1974)
46) HOUBEN-WEYL, Methoden der organischen Chemie, Bd. 8, 4.Aufl., S.684 f., Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1952
47) HOUBEN-WEYL, Methoden der organischen Chemie, Bd. 10/4, 4.Aufl., S.193, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1968

Von besonderem analytischem Interesse ist die Reaktion von Hydroxamsäuren mit Eisen(III)-Salzen zu einem violett gefärbten Chelat, dessen Struktur von ZINNER[48] als Komplex mit der Koordinationszahl 6 angegeben wird, wobei drei Moleküle Hydroxamsäure mit einem Eisen(III)-Ion zusammentreten:



Für die Ph.Eur.-Reaktion mit Chloramphenicol lag die Annahme nahe, daß es sich dabei ebenfalls um eine Hydroxamsäure-Reaktion handeln könnte.
Dies wird auch von BEINROTH[4] in einer zwischenzeitlich erschienenen Arbeit postuliert, allerdings ohne irgendeinen schlüssigen Beweis hierfür zu liefern.
Es mußte deshalb, um alle Zweifel auszuräumen, Ziel dieser Arbeit sein, die vermutete Hydroxamsäure, wenn möglich auch den daraus entstehenden Eisen-Komplex, zu isolieren und zu charakterisieren.
Damit wäre nicht nur der zweite Teil der Arzneibuchreaktion erklärt, sondern auch der letzte Beweis für die Hydroxylaminstufe des Chloramphenicols nach Zinkstaub-Reduktion erbracht.

---

48) G.ZINNER und E.KETZ, Pharm. Ztg. 121, 910 (1976)

2.1. Untersuchung von Modellsubstanzen

Um den Reaktionsverlauf zunächst an einfachen Molekülen zu untersuchen, wurde auf die Modellsubstanzen 4-Nitrotoluol (**1**) sowie 4-Nitrobenzylalkohol (**6**) zurückgegriffen und diese nach Zinkstaub-Reduktion mit Natriumacetat und Benzoylchlorid umgesetzt.

2.1.1. 4-Nitrotoluol

Die nach Reduktion vom Zink befreite, p-Tolylhydroxylamin (**2**) enthaltende Ansatzlösung (vgl.1.1.1.2.) wurde mit entsprechender Menge Natriumacetat versetzt und anschließend benzoyliert.

Da Benzoylchlorid nach der Arzneibuchvorschrift in einem 12-fachen Überschuß*) eingesetzt wird, löst sich in dem alkoholisch-wäßrigen Milieu auch nach Schütteln nur eine geringe Menge; der Rest trennt sich als Tröpfchen ab und sammelt sich am Boden als zweite Phase.

Ein DC des Ansatzes zeigt eine deutliche, mit Eisen(III)-chlorid anfärbbare Zone.

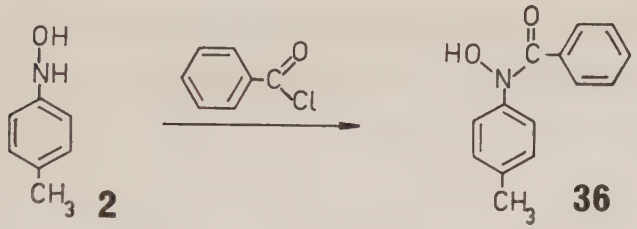
Zum Vergleich wurde die gesuchte N-(p-Tolyl)-benzhydroxamsäure (**36**) aus p-Tolylhydroxylamin (**2**) durch Benzoylierung in Ether/Pyridin[49] dargestellt und IR-, NMR- sowie massen-

---

*) 2 Tropfen Benzoylchlorid, abgemessen mit dem Normaltropfenzähler, wiegen im Durchschnitt 0,053 g.

49) S.G.TANDON und S.C.BHATTACHARYYA, J. Chem. Eng. Data 7, 553 (1962)

spektroskopisch charakterisiert. Sie stimmte im übrigen mit den Literaturangaben[49] überein.



Das 80-MHz-^{1}H-NMR-Spektrum (DMSO-d_6) zeigt das mit D_2O austauschbare saure Proton der Hydroxamsäuregruppe bei δ = 10,60 ppm, während die neun aromatischen Protonen als Multiplett zwischen δ = 7,19 und 7,68 ppm zur Resonanz kommen; die Methylgruppe liegt bei δ = 2,28 ppm.
Mit Eisen(III)-chlorid-Lösung ergab die Hydroxamsäure in wäßrig-alkoholischer Lösung eine tiefviolette Färbung.

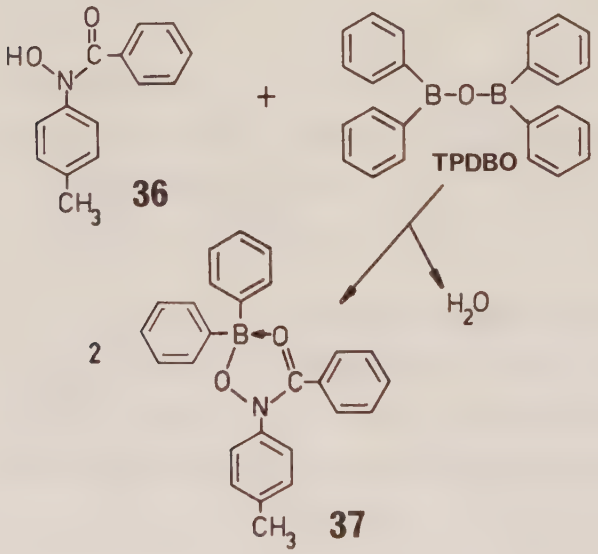
Da die strukturellen Voraussetzungen zur Entstehung von Borchelaten, die Bildung eines Fünfrings mit einer Borester- und einer koordinativen Bindung zum Carbonylsauerstoff, vorlagen, und zudem Hydroxamsäuren mit ihrem pK_a[45] von ca. 9 ähnlich den ebenfalls chelatbildenden Phenolen sind, war die Bildung eines Borheterocyclus mit Tetraphenyldiboroxid (TPDBO)[50] nicht unwahrscheinlich, wenn dies

---

50) R.NEU, Chem. Ber. 87, 802 (1954)

auch bisher nur für N-unsubstituierte Hydroxamsäuren mit freier Borsäure beschrieben ist[51].

Tatsächlich gelang es, aus konzentrierten ethanolischen Lösungen von TPDBO und **36** einen gut kristallisierenden Komplex **37** darzustellen, der eindeutig charakterisiert werden konnte.



Daß dabei das Boratom mit dem Carbonylsauerstoff der Hydroxamsäure-Funktion eine koordinative Bindung eingegangen ist,

---

51) K.KOBASCH, N.TERASHIMA und J.HASE, Chem. Pharm. Bull. 21, 2303 (1973)

zeigt das IR-Spektrum deutlich durch Erniedrigung der Carbonyl-Valenzschwingungsfrequenz von 1640 auf 1595 cm^{-1}.

Nachdem im DC die unabhängig dargestellte Hydroxamsäure **36** gleiches Fließverhalten wie die nach Benzoylierung aus dem Ph.Eur.-Ansatz entstandene Verbindung zeigte, wurde versucht, letztere zu isolieren.
Dies gelang schließlich nach weitgehendem Entfernen des Ethanols und Ausschütteln des Ansatzes mit Ether aus saurer Lösung, nachdem nicht umgesetztes 4-Nitrotoluol (**1**) (Umsetzungsrate wegen schlechter Löslichkeit nicht sehr hoch; vgl. 1.1.1.2.) zuvor aus alkalischer Lösung extrahiert werden konnte.
Durch Verseifung von Benzoylchlorid entstandene Benzoesäure befand sich quantitativ in den ersten beiden Extrakten aus saurer Lösung und konnte somit entfernt werden.

Die allmählich kristallisierende Verbindung hatte die gleichen Eigenschaften wie die zuvor beschriebene Hydroxamsäure **36** und war mit dieser identisch.

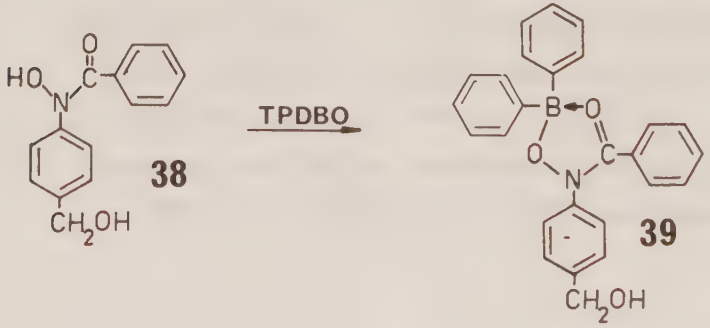
2.1.2. 4-Nitrobenzylalkohol

Die Chloramphenicol-Reaktion der Ph.Eur ist mit 4-Nitrobenzylalkohol (**6**) als Modellsubstanz aufgrund dessen besserer Löslichkeit im vorwiegend wäßrigen Milieu realistischer durchzuführen als mit 4-Nitrotoluol (**1**).
So fällt auch die "Hydroxamsäure-Reaktion" mit Eisen(III)-

chlorid deutlich kräftiger aus; es entsteht eine tiefviolette Farbe, und das DC weist neben relativ viel Benzoesäure und nicht umgesetzter Nitroverbindung auch eine ausgeprägte, mit Eisenchlorid-Lösung anfärbbare Hydroxamsäure-Zone auf.

Auf ähnlichem Wege wie bei 4-Nitrotoluol (**1**) konnte die Hydroxamsäure von den im Ansatz befindlichen Begleitsubstanzen abgetrennt und isoliert werden.

Zwar war die so erhaltene Hydroxamsäure **38** auf anderem Wege nicht zugänglich, da 4-Hydroxylaminobenzylalkohol (**7**) nicht zu isolieren war (vgl. 1.1.2.). Durch spektroskopische Befunde konnte im Vergleich mit der Hydroxamsäure **36** die Struktur jedoch gesichert werden.



So liegt im IR-Spektrum die Carbonylbande bei 1615 cm^{-1}, wogegen **36** diese bei 1640 cm^{-1} zeigte.

Im ^{1}H-NMR-Spektrum zeigt das "saure" Hydroxamsäure-Proton exakt die gleiche chemische Verschiebung (δ = 10,60 ppm) wie bei **36**, und im Massenspektrum war der Molpeak von 243

deutlich zu erkennen.

Zusätzlich gelang es, mit TPDBO das gut kristallisierende Diphenylborinsäurechelat **39** darzustellen.

Klar ersichtlich - insbesondere im NMR-Spektrum - ist, daß die Hydroxymethylgruppe des Benzylalkohols **7** im wäßrig-alkoholischen Milieu nicht durch Benzoylchlorid verestert wurde, sondern daß lediglich Angriff am nucleophileren Stickstoff und damit Bildung der Benzhydroxamsäure **38** stattgefunden hat.

Damit steht für die beiden Modellsubstanzen fest, daß unter den Bedingungen der Ph.Eur. eine Umsetzung von Benzoylchlorid mit dem zuvor entstandenen Hydroxylamin zur entsprechenden Benzhydroxamsäure stattfindet, die ihrerseits mit Eisen(III)-chlorid die intensiv gefärbten Chelate bildet.

2.2. Untersuchungen mit Chloramphenicol

Nach Ph.Eur. soll auch bei Chloramphenicol am Ende des dort beschriebenen Reaktionsablaufs - nach Zusatz von Eisen(III)-chlorid-Lösung und Salzsäure - eine rotviolette Färbung entstehen, die den positiven Ausfall der Identitätsprüfung anzeigt.

Ein erster, mit den Mengen der Ph.Eur. (10 mg Chloramphenicol) durchgeführter Versuch konnte dies bestätigen.

Um jedoch genauere Aussagen über entstandene Verbindungen machen zu können, erfolgten die weiteren Prüfungen wieder mit der hundertfachen Ansatzmenge.

So wurden nach Erkalten der Lösung und Entfernen des aus der ersten Reaktionsstufe stammenden Zinkschlamms

- 10 g wasserfreies Natriumacetat sowie anschließend
- 5,3 g (≙ 4,4 ml) Benzoylchlorid

zugesetzt und eine Minute lang stark gerührt.

Danach beobachtet man das Absetzen einer großen Menge öliger Tröpfchen nicht verbrauchten bzw. nicht gelösten Benzoylchlorids, das nach Ph.Eur. - bezogen auf die vorgeschriebene Chloramphenicol-Menge - in einem ca. 12-fachen Überschuß eingesetzt wird.

Der pH der Lösung beträgt dann 7, während vor Benzoylchlorid-Zugabe, also nach Natriumacetat-Zusatz, ein pH von 8 gemessen wurde.

Entfernt man das vollständig abgesetzte, überschüssige Benzoylchlorid und läßt die Ansatzlösung kurze Zeit stehen, so beobachtet man das Ausfallen einer weißen, kristallinen

Substanz, deren Abscheidung nach ca. zehn Minuten beendet ist.
Da BEINROTH[4)] diese als Benzoesäure identifiziert haben wollte, wurde die nähere Untersuchung dieser Verbindung zunächst zurückgestellt (s. 2.3. und 5.).
Um auch für Chloramphenicol letztlich den gesamten Reaktionsverlauf zu klären, war es entscheidend, die entstehende Benzhydroxamsäure des Chloramphenicols zu isolieren und zu charakterisieren.

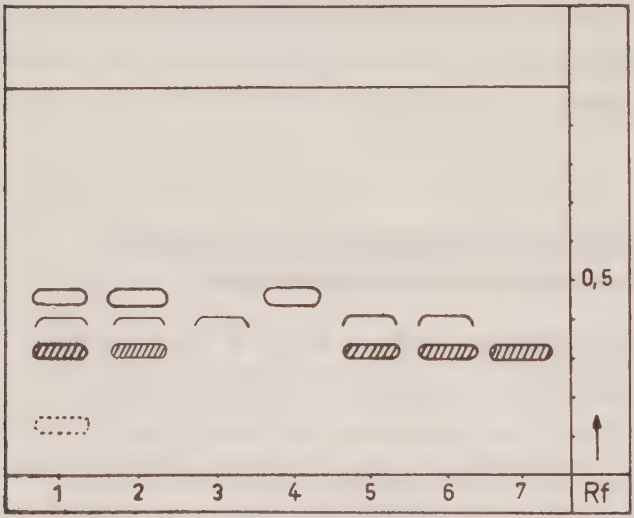
Aus Gründen, die später zu erläutern sind, wurde der zur Isolierung der Hydroxamsäure herangezogene Ansatz nur einer fünfminütigen Zinkstaubbehandlung unterzogen (vgl. 2.4.). Ferner wurde auf den Zusatz von Natriumacetat vor der Benzoylierung verzichtet (vgl. 2.5.).

2.2.1. Isolierung und Charakterisierung der aus Chloramphenicol entstehenden Benzhydroxamsäure

Da die aus dem "Chloramphenicol-Hydroxylamin" **21** entstehende Hydroxamsäure infolge der Propandiol-Seitenkette recht hydrophil ist, bereitete die Isolierung aus vorwiegend wäßrigem Milieu größere Schwierigkeiten als bei den Modellsubstanzen **36** und **38**.
Zwar ließ sich die Hydroxamsäure - nach weitgehendem Entfernen des im Ansatz enthaltenen Ethanols - durch mehrmaliges Ausschütteln mit Ether zum überwiegenden Teil extra-

hieren; gleichzeitig gingen jedoch nicht umgesetztes Chloramphenicol sowie die durch Verseifung des Benzoylchlorids entstandene Benzoesäure mit in die organische Phase, so daß eine Trennung von diesen "Begleitsubstanzen" nötig war.

Die etwas eingeengte Etherphase wurde deshalb mit 0,001 N-NaOH gegengeschüttelt, wodurch die Säuren als Natriumsalze in die wäßrige Phase (W) übergingen, während Chloramphenicol fast quantitativ in der organischen Phase (O) blieb. (s. Abb. 5 und 6).



Plattenmaterial:
Kieselgel 60 MERCK

Fließmittel:
Chloroform/
Methanol (80:20)

Detektion
1. UV-Licht (254nm)
2. Eisen(III)-chlorid-Lösung

1 = Ansatz - Lösung
2 = Ansatz - Lösung nach Etherausschüttlung
3 = Benzoesäure
4 = Chloramphenicol
5 = }
6 = } siehe Text
7 = }

Abb. 5 : DC der Benzoylierung des reduzierten Chloramphenicols sowie der Isolierung der entstandenen Hydroxamsäure

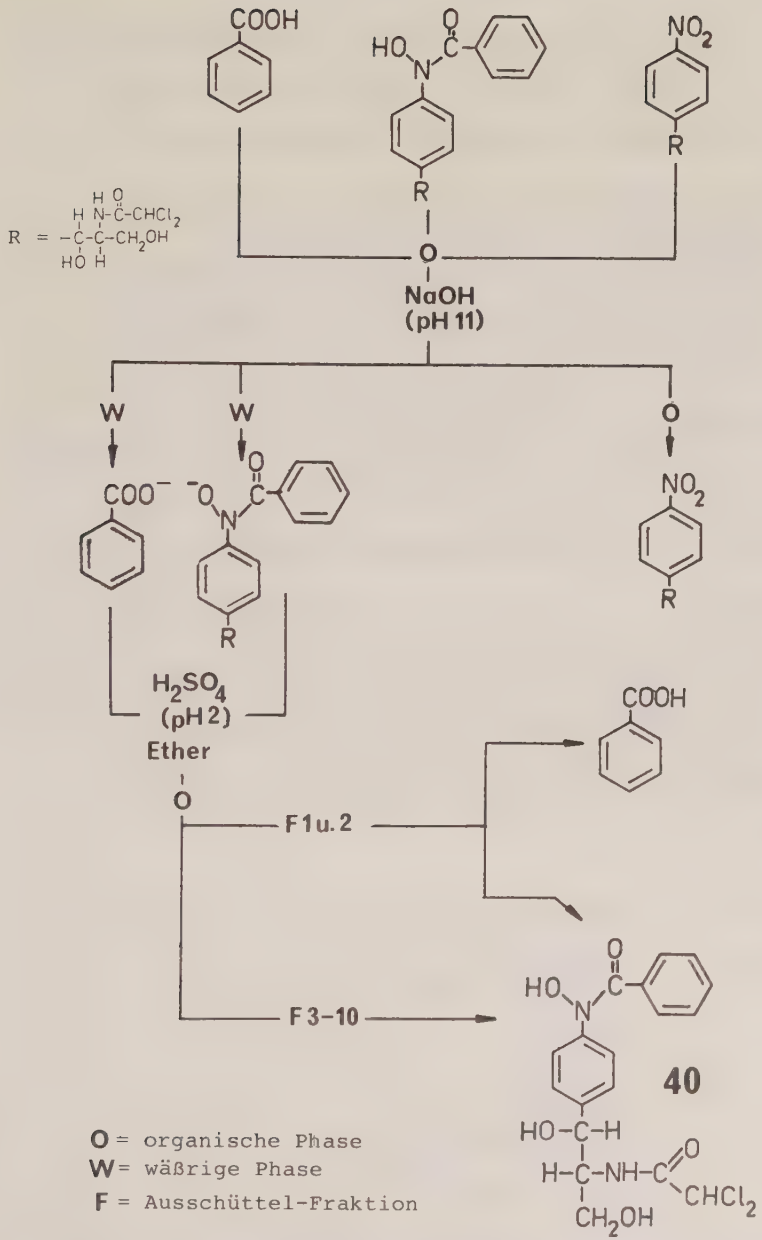
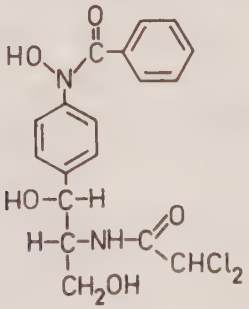


Abb. 6: Schematische Darstellung der Isolierung der Benzhydroxamsäure **40** aus dem Ph.Eur.-Ansatz

Reste in der wäßrig-alkalischen Phase konnten mit einmaliger Ether-Extraktion entfernt werden (Zone 5 in Abb. 5). Nach Ansäuern der Wasserphase auf pH 2-3 mit verdünnter Schwefelsäure konnten beide Säuren wieder ausgeschüttelt werden, wobei Benzoesäure quantitativ in den beiden ersten Etherfraktionen (F 1 und 2) - allerdings neben beträchtlichen Mengen Hydroxamsäure - enthalten war (Zone 6 in Abb. 5).

In den folgenden acht Ausschüttlungsgängen konnte dann die restliche, DC-reine Hydroxamsäure fast vollständig extrahiert werden (Zone 7 in Abb. 5).

Nach Einengen der Etherphasen und mehrtägigem Stehen bei Raumtemperatur war eine gelblichweiße Substanz ausgefallen, die aus reiner Hydroxamsäure **40** bestand und sich beim Versetzen mit Eisen(III)-chlorid-Lösung violett färbte. Die an der Luft stabile Verbindung konnte aus Ethanol umkristallisiert werden und wies einen definierten Schmelzpunkt auf.



40

Durch das Mikroskop sind kleine transparente, quadratische Blättchen zu erkennen, die sich bei Zugabe von Eisen(III)-chlorid-Lösung nach und nach rotviolett färben.

Das IR-Spektrum (KBr) von **40** zeigt die für Hydroxamsäuren typische Carbonylbande bei 1620 cm^{-1}, während die Valenzschwingungsbande des Dichloracetamid-Carbonyls, wie bei Chloramphenicol, bei 1690 cm^{-1} liegt. Im Bereich von 2700 bis 3500 cm^{-1} sind die für Säuren charakteristischen breiten Banden infolge starker Assoziationen zu erkennen.

Im ^{1}H-NMR-Spektrum (Abb. 7) kommt das saure Proton - analog den zuvor beschriebenen Hydroxamsäuren - bei δ = 10,60 ppm zur Resonanz.

Das aliphatische Amidproton erscheint als Dublett zwischen 8,12 und 8,23 ppm, während die neun aromatischen Protonen als Multiplett zwischen 7,25 und 7,68 ppm sichtbar werden. Die Resonanzlage der übrigen sieben aliphatischen Protonen entspricht fast exakt derjenigen des Chloramphenicols (s. Abb. 3).

Nach Zusatz von D_2O verschwinden erwartungsgemäß die Signale des sauren Hydroxamsäureprotons und des Amidprotons ebenso wie die der beiden alkoholischen Hydroxylprotonen.

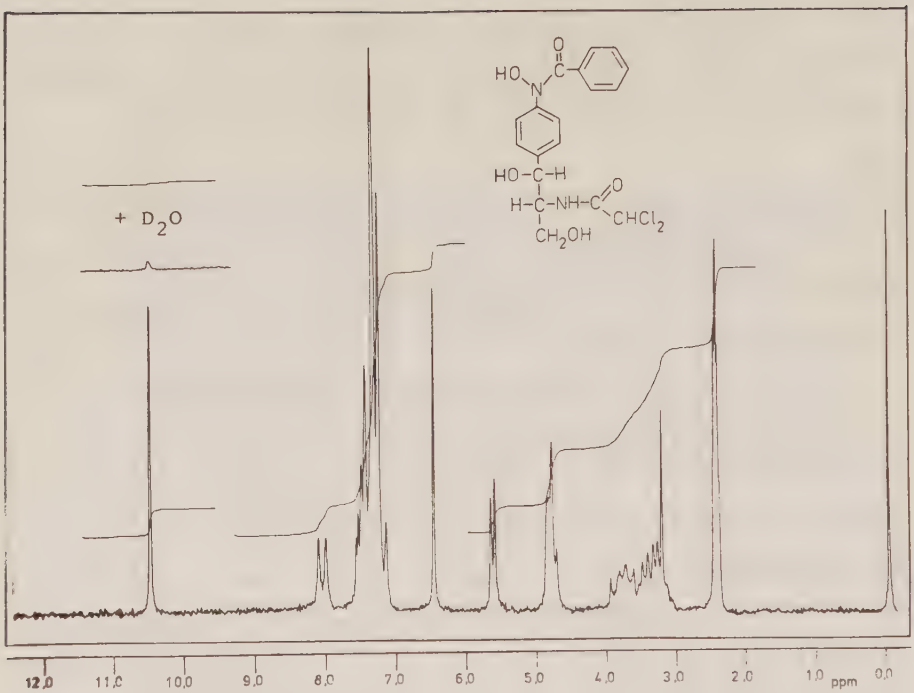


Abb. 7: ^{1}H-NMR-Spektrum (DMSO-d_6; 80 MHz) der aus Chloramphenicol nach Reduktion und Benzoylierung entstehenden Benzhydroxamsäure **40**

Somit ist auch zwingend das ursprüngliche (nach Zinkstaub-Reduktion) Vorhandensein des "Chloramphenicol-Hydroxylamins" (**21**) letztendlich bewiesen, denn die Entstehung einer Hydroxamsäure mit Hilfe eines Säurechlorids ist nur in Gegenwart des entsprechenden Hydroxylamins durch N-Acylierung möglich[52].

---

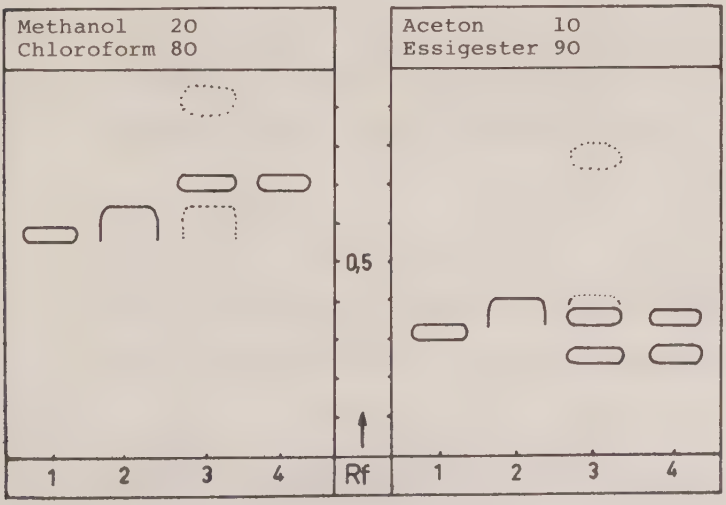
52) O.NEUNHOEFFER und R.GOTTSCHLICH, Justus Liebigs Ann. Chem. 736, 105 (1970)

2.3. Entstehung von O-Benzoyl-Benzhydroxamsäuren

2.3.1. aus Chloramphenicol

Wie unter 2.2. erwähnt, wurde nach Zusatz von Natriumacetat und Benzoylchlorid zum Filtrat des Reduktionsansatzes und kurzzeitigem Stehenlassen das Ausfallen einer weißen flockigen Substanz beobachtet, die Eisen(III)-negativ war und deren Abscheidung nach ca. zehn Minuten beendet war.

BEINROTH[4)] identifizierte diese Verbindung bei ihren "in allen Einzelheiten durchgeführten" Untersuchungen als Benzoesäure, obwohl selbst nach Etherextraktion noch eine Auftrennung in sechs Zonen erfolgte!



1 = Chloramphenicol
2 = Benzoesäure
3 = weiße, ausgefallene Substanz
4 = dto., nach Umkristallisieren

Plattenmaterial:
Kieselgel 60 MERCK

Detektion:
UV-Licht (254 nm)

Abb. 8: DC der nach Benzoylierung ausgefallenen Substanz

Da ein selbst angefertigtes DC (Abb. 8), ohne weitere Aufarbeitung der Probe, schon bald zeigte, daß es sich bei dem fraglichen Produkt keineswegs um eine einheitliche Verbindung handelt, wurde versucht, für genauere Untersuchungen größere Mengen zu erhalten.
Dabei fällt auf, daß die Ausfällung um so mehr auftritt (bis zu 20 Prozent bezogen auf Chloramphenicol), je kürzer die Abkühlzeit der Lösung vor Zugabe von Natriumacetat / Benzoylchlorid, d.h. je wärmer also die Hydroxylamin-Lösung ist.
Das DC der abfiltrierten Substanz (Abb.8, Zone 3) weist nur eine schwache Zone von Benzoesäure und Benzoylchlorid auf, während der größte Teil aus einer neuen Verbindung besteht.
Benzoesäure- und Benzoylchlorid-Spuren ließen sich quantitativ durch einmaliges Umkristallisieren aus Ethanol abtrennen, so daß der gefundene Niederschlag als dc-rein gelten konnte.
Allerdings zeigte die gereinigte Substanz **41a** in manchen Fließmitteln (Abb.8, rechtes DC) Auftrennung in zwei nahe beieinanderliegende Zonen, deren R_f-Unterschied an den der beiden verschieden chlorsubstituierten Azoxyverbindungen **22a,b** (vgl. 1.3.2. bzw. 1.3.4.) erinnerte.
Tatsächlich zeigt das ^{1}H-NMR-Spektrum (Abb. 9) von **41** sowohl ein Dichlor- als auch ein Monochloracetyl-Protonen-Singulett bei δ = 6,45 bzw. 3,95 ppm.

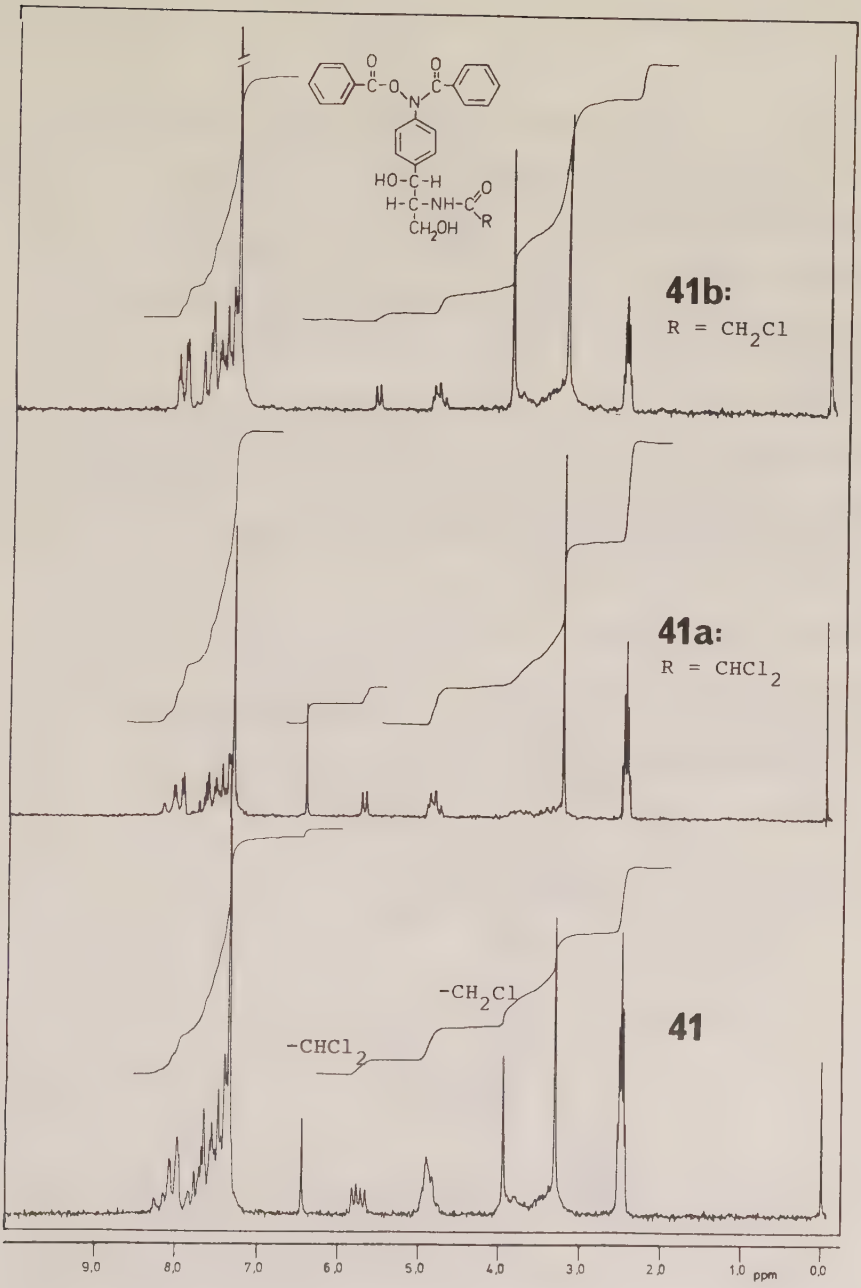
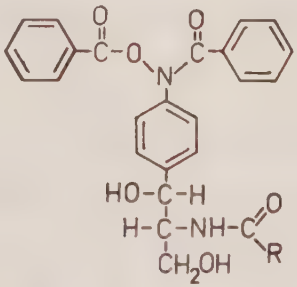


Abb. 9: ^{1}H-NMR-Spektren des Gemischs **41** sowie der Einzelkomponenten **41a** und **41b** (DMSO-d_6; 80 MHz)

Alle anderen Protonen haben Resonanzlagen, die, um ca. 0,2 ppm zu hohem Feld verschoben, exakt denen der aliphatischen Chloramphenicol-Protonen (vgl. Abb. 3) entsprechen, während sie im Verhältnis zu den Methin- bzw. Methylenprotonen der Dichlor- bzw. Monochloracetylgruppen doppelt erscheinen.

Der Aromatenbereich (δ = 7,35 bis 8,07 ppm) weist entsprechend obigem Verhältnis 28 aromatische Protonen aus, zehn mehr, als durch Eintritt eines Benzoylrests in jedes Molekül des anzunehmenden Gemischs hätten erscheinen dürfen. Da die beiden alkoholischen Hydroxylprotonen (δ = 4,8 und 5,7 ppm) noch erkennbar sind und zudem keine sauren Hydroxamsäure-Protonen über 10 ppm erscheinen, kann der zweite Benzoylrest nur an den Sauerstoff der Hydroxamsäure-Funktion von **40** getreten sein.



41a: R = $CHCl_2$
41b: R = CH_2Cl

Daß dies, insbesondere bei überschüssigem Säurechlorid, möglich ist, ist für die Darstellung von O-Acyl-Hydroxam-

säuren beschrieben[46,47,53].

Um zu klären, ob es sich tatsächlich um ein Gemisch verschieden chlorsubstituierter O-Benzoyl-Benzhydroxamsäuren handelt, wurde eine säulenchromatographische Trennung in **41a** und **41b** durchgeführt. Dabei gab das ^{1}H-NMR-Spektrum (Abb. 9) Aufschluß über die Struktur der beiden Komponenten.

So findet man bei der lipophileren Verbindung **41a** außer den gewohnten aliphatischen Protonensignalen lediglich einen Dichloracetyl-Peak bei δ = 6,45 ppm, während **41b** ein ein Monochloracetyl-Singulett bei δ = 3,95 ppm aufweist. Das Protonenverhältnis von aromatischen zu aliphatischen Protonen beträgt 14:8 bzw. 14:9.

^{13}C-NMR-Untersuchungen sowie die Elementaranalyse bestätigten für die nach Natriumacetat/Benzoylchlorid-Zugabe ausgefallene Substanz die Strukturen **41a** und **41b**.

Um zu zeigen, daß der zweite Benzoylrest tatsächlich am Hydroxamsäure-Sauerstoff der bereits durch N-Acylierung gebildeten Hydroxamsäure angreift, wurde die isolierte Benzhydroxamsäure **40** unter genau gleichen Bedingungen wie zur Bildung des beim Ph.Eur.-Ansatz ausgefallenen Gemischs nötig nachträglich benzoyliert.

Auch hier tritt bald ein weißer Niederschlag auf, der im DC eine einheitliche Zone, identisch mit der sc gewonnenen O-Benzoyl-Benzhydroxamsäure **41a** aufwies. Schmelzpunkt und IR-Spektren waren ebenfalls identisch.

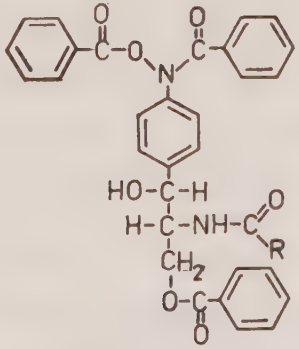
---

53) G.ZINNER und M.HITZE, Arch. Pharm. (Weinheim) 302, 788 (1969)

Umgekehrt konnte durch Verseifung mit ethanolischer NaOH[54] der O-Benzoylrest abgespalten werden und durch anschließendes Verdünnen, Ansäuern und Ausschütteln mit Ether die freie Hydroxamsäure **40** wieder im DC identifiziert werden, so daß diese mit Sicherheit die Vorstufe der durch überschüssige Benzoylierung gebildeten Verbindungen **41a** und **41b** abgibt.

2.3.2. Entstehung von O-Benzoyl-Benzhydroxamsäuren aus Benzoylchloramphenicol

Das gleiche Ergebnis hatten Versuche, die mit Benzoylchloramphenicol (**42**)[55] durchgeführt wurden.
Auch hier tritt nach Natriumacetat- und Benzoylchlorid-Zugabe Ausfällung einer weißen Substanz **43** ein, jedoch in weit größerem Ausmaß als bei Chloramphenicol.



43a: R = $CHCl_2$
43b: R = CH_2Cl

---

54) W.O.LUKASCHEWITSCH, Justus Liebigs Ann. Chem. 521, 198 (1936)

55) V.KVITA, Pharm. Zentralhalle Dtschl. 107, 193 (1968)

Wohl infolge der geringeren Löslichkeit im Ph.Eur.-Milieu erfolgte - ebenfalls temperaturabhängig - fast quantitative Ausfällung, wodurch die Hydroxamsäure-Reaktion nur kurzzeitig positiv war.

Das DC zeigt Auftrennung in zwei Zonen, so daß eine sc Trennung in **43a** und **43b** durchgeführt werden konnte.

Das ^{1}H-NMR-Spektrum (Abb. lO) weist das Dichloracetylproton in **43a** bei δ = 6,43 ppm, in **43b** dagegen die Methylenprotonen der Chloracetylgruppe bei δ = 3,95 ppm auf.

Die Integralverhältnisse zeigen, daß sich hier jeweils 19 aromatische Protonen einem bzw. zwei Protonen aus den verschieden chlorsubstituierten Acetylgruppen gegenüberstehen.

Durch Veresterung der primären Chloramphenicol-Hydroxylgruppe[55)] entfällt das Hydroxylproton bei ca. 5 ppm, während infolge erhöhter Entschirmung die drei aliphatischen Protonen an C^{2} und C^{3} der Propan-Seitenkette um ca. O,6 ppm tieffeldverschoben sind und nun zwischen δ = 4,22 und 4,51 ppm zur Resonanz kommen.

Um auf anderem Wege zu der identifizierten O-Benzoyl-Benzhydroxamsäure **43a** zu gelangen, wurde die Benzoylierung des Hydroxylamins **21** mit Benzoylchlorid in Pyridin bei niedrigen Temperaturen durchgeführt[54)].

Da das Hydroxylamin jedoch nicht isoliert werden konnte (vgl. 1.3.1.), wurde die Lösung nach Zinkstaub-Behandlung geringfügig eingeengt und mit Ethylacetat mehrfach extrahiert, bis der überwiegende Teil in die organische Phase gegangen war.

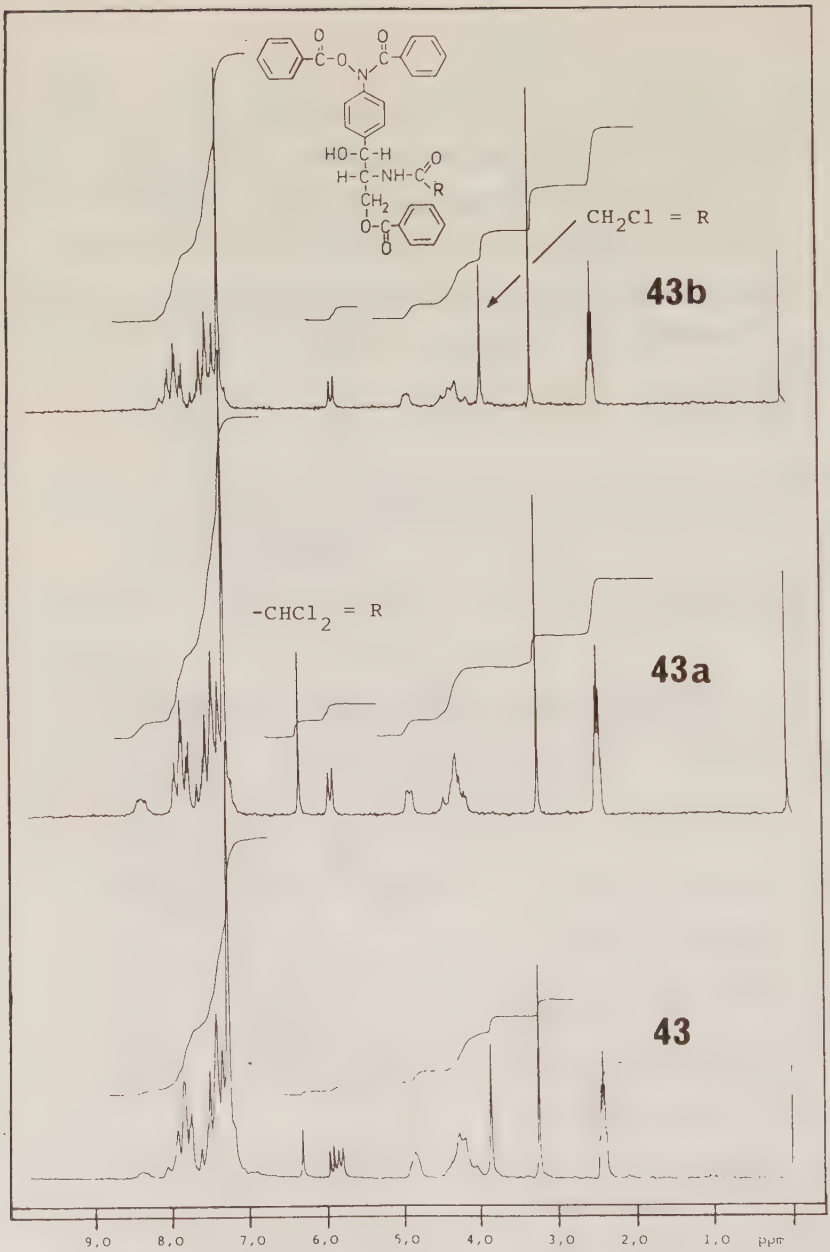
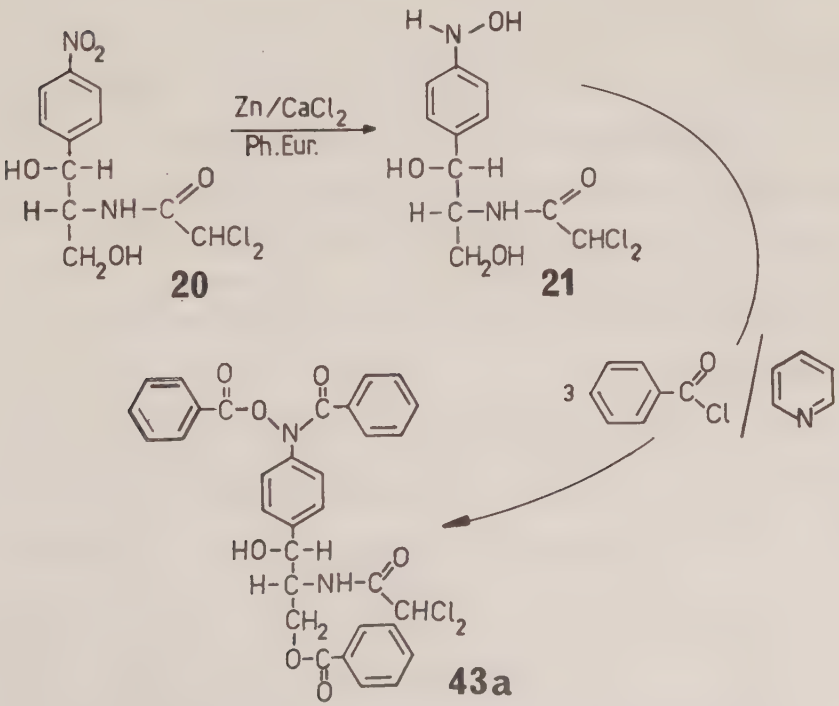


Abb. 10: ^{1}H-NMR-Spektrum des Gemischs **43** sowie dessen Einzelkomponenten **43a** und **43b** ; 80 MHz; DMSO-d_6

Nach Benzoylierung hatte der anschließende Zusatz verdünnter Schwefelsäure zum eingeengten Gemisch die Ausfällung einer weißen Substanz zur Folge, die nach Reinigung und Umkristallisation identisch war mit **43a** und ebenfalls keine Färbung mit Eisen(III)-chlorid-Lösung ergab.
Gleichzeitig zur N,O-Dibenzoylierung des Hydroxylamins wird die primäre Hydroxylgruppe verestert, während die sekundäre alkoholische Funktion an C^1 wohl aus sterischen Gründen nicht angegriffen wird.



Auch durch HPL-Chromatographie konnte gezeigt werden, daß **43a** identisch mit der durch Säulenchromatographie erhaltenen Verbindung ist.
Im Fließmittelgemisch Methylenchlorid / Ether (90:10) war zudem eine HPL-chromatographische Trennung des Gemischs **43** mit einer Retentionszeit-Differenz von 4,2 Min. möglich, und es ergaben sich bei Mischinjektion mit den sc getrennten Einzelkomponenten nur zwei Peaks.

2.3.3. Entstehung von O-Benzoyl-Benzhydroxamsäuren aus Chloramphenicol-Acetonid

Chloramphenicol-Acetonid (**34**), das bereits zum vergleichenden Beweis bei der Entstehung der Azoxyverbindungen **22a,b** (s. 1.4.) herangezogen worden war, sollte auch für die Aufklärung des zweiten Reaktionsschritts zum Einsatz kommen. Da Acetale - je nach Struktur verschieden stark - säurelabil sind, mußte wegen pH-Senkung infolge Salzsäure- und Hydroxamsäure-Bildung mit der Spaltung des Acetonids[56] gerechnet werden.
Daß diese tatsächlich stattgefunden hatte, zeigte die Ausfällung des Gemischs **41a,b** , jener O-Benzoyl-Benzhydroxamsäuren also, die auch bei Chloramphenicol, der nicht acetalisierten Verbindung, entstanden waren.

---

56) S.PATAI, The Chemistry of the Hydroxyl Group, S.1033, Academic Press, New York City 1971

2.4. Der Einfluß der Dauer der vorausgegangenen Zinkstaub-Behandlung auf die Chlorsubstitution der entstehenden O-Benzoyl-Benzhydroxamsäuren

Wie unter 1.2. und 1.3. dargestellt, führt unter den Bedingungen der Ph.Eur. die Zinkstaub-Behandlung - außer zur Reduktion der aromatischen Nitrogruppe - auch zu einem reduktiven Angriff auf das in der Acetamid-Seitenkette gebundene Chlor, so daß je nach Substanzeigenschaften und Reaktionsbedingungen unterschiedlich viele Chloratome durch Wasserstoff ersetzt werden.

Dies wurde auch bei Chloramphenicol und -Derivaten in Zusammenhang mit den verschieden chlorsubstituierten Azoxyprodukten **22a**, **b** bzw. **35a,b,c** festgestellt.

Im Falle der als Nebenprodukte anzusehenden O-Benzoyl-Benzhydroxamsäuren **41a**, **b** bzw. **43a**, **b** konnte ebenfalls ein Gemisch verschieden halogenierter Verbindungen isoliert werden.

Hält man die in Ph.Eur. beschriebene Reaktionsdauer für die Zinkstaub-Behandlung von 10 Minuten exakt ein, so entsteht später nach Benzoylierung von **21** ein Gemisch **41** aus mono- und dichlorsubstituierten Verbindungen fast genau im Verhältnis 1:1, wie die ausgedruckten Flächenintegrale im HPL-Chromatogramm mit 50,14 zu 49,86 auswiesen.

Letzteres hatten bereits die ^{1}H-NMR-Spektren (Abb. 9 und 10) bestätigt, wenn diese auch eine derart genaue Festlegung nicht zulassen.

Erhöht man jedoch die Reaktionsdauer der Zinkstaub-Behand-

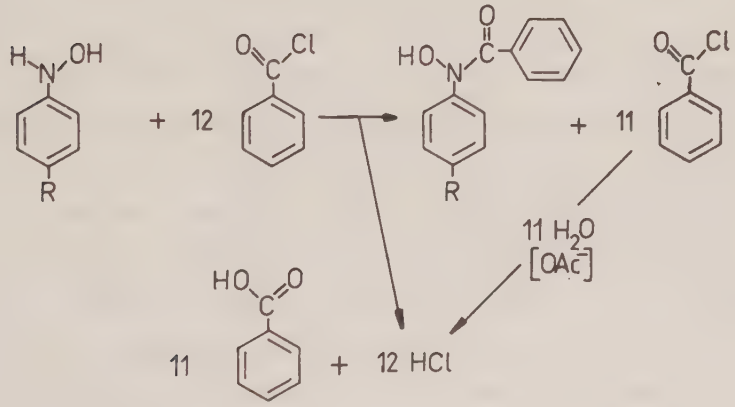
lung auf 30 Minuten, so stellt man eine deutliche Abnahme der Dichlorverbindung **41a** zugunsten des Monochlorderivates **41b** fest, was im HPL-Chromatogramm mit einem Verhältnis von 6,6 zu 93,4 zu erkennen ist.
Bei Verkürzung der Wasserbadbehandlung auf fünf Minuten dagegen ist fast zu 100 Prozent nur der Peak der Dichloracetylverbindung **41a** zu sehen; erst nach Ablauf dieser Zeit erfolgt partieller Ersatz des Chlors durch Wasserstoff, wobei nach zehn Minuten Dauer eine Umsetzungsrate von zufällig genau 50 Prozent erreicht ist.
Da eine fünfminütige Zinkstaub-Reduktion jedoch bereits ausreicht, die aromatische Nitrogruppe fast quantitativ zum Hydroxylamin zu reduzieren, ist es zur Vermeidung monochloracetylierter Nebenprodukte ratsam, den ersten Teil der Identitätsreaktion auf Chloramphenicol nach Ph.Eur. in dieser kürzeren Zeit durchzuführen.
Aus diesem Grunde wurde auch zur Isolierung der Benzhydroxamsäure **40** (vgl. 2.2.1.) die Zinkstaub-Behandlung auf fünf Minuten verkürzt.

2.5. Der Einfluß von Natriumacetat

Es ist üblich, Acylierungen mit einer Base als "Säurefänger" durchzuführen.

Dabei können sowohl Alkalihydroxide als auch -carbonate und -acetate[57,58] sowie Pyridin[58] zum Einsatz kommen.

Auch Ph. Eur. läßt die Benzoylierung zur Hydroxamsäure unter Zusatz von Natriumacetat durchführen, wobei gegenüber der eingesetzten Chloramphenicol-Menge mit einem ca. 40-fachen Überschuß des abpuffernden Salzes gearbeitet wird.



---

57) Organikum, 15.Aufl., S.505, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin 1977

58) HOUBEN-WEYL, Methoden der organischen Chemie, Bd. 11/2, 4.Aufl., S.11, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1958

Berücksichtigt man einerseits den 12-fachen Überschuß an Benzoylchlorid und unterstellt weiterhin, daß das überschüssige Säurechlorid quantitative Hydrolyse bzw. Alkoholyse erleidet, so stellt man noch immer einen Natriumacetat-Überschuß von ca. 100 Prozent fest.
Da jedoch nur von einem geringen Teil Benzoylchlorid auszugehen ist, der verseift wird, ist der Acetat-Überschuß - infolge weniger gebildeter Salzsäure - letztendlich noch beträchtlicher.

2.5.1. Der Einfluß von Natriumacetat auf die mit Eisen(III)-chlorid entstehende Farbe

Daß der Natriumacetat-Zusatz Einfluß auf die nach Eisen(III)-chlorid-Zugabe entstehende rotviolette Färbung hat, erkannte schon BEINROTH[4].

Danach soll bei Verwendung des vorgeschriebenen wasserfreien Natriumacetats *R* die Lösung nach Benzoylierung einen pH von 7 aufweisen und auf Eisenchlorid-Zusatz ein rotbrauner Niederschlag auftreten, der nach Säurezugabe unter Hinterlassung einer rotbraun-violetten Farbe wieder in Lösung geht.

Zur Abhilfe empfiehlt deshalb die Autorin den Einsatz wasserhaltigen Natriumacetats ($CH_3COONa \cdot 3H_2O$); die Lösung erreicht dabei nach Benzoylierung nur einen pH von 6 und der erwähnte Niederschlag tritt nicht auf. Dennoch ist die Zugabe von verdünnter Salzsäure nach wie vor notwendig, um die geforderte Farbe entstehen zu lassen.

Die erwartete Verbesserung durch Verwendung wasserhaltigen Natriumacetats erscheint indes sehr fraglich, da ohnehin keine Erhöhung der Spezifität erreicht wird, zumal der Einsatz des wasserhaltigen Salzes nichts anderem als einer Verringerung der Einwaage und damit des großen Überschusses gleichkommt.

Da zum Erreichen der geforderten rotvioletten Färbung ein pH < 6 erforderlich ist, dieser aber offensichtlich wegen der Pufferwirkung des Natriumacetats durch die entstehende Salzsäure nicht erreicht werden kann, lag der Schluß nahe, die Benzoylierung ohne Natriumacetat-Zusatz durchzuführen.

Ein erster Versuch zeigte, daß sich der pH von anfangs 7 nach Benzoylchlorid-Zusatz auf 3 verringerte, während bei vorheriger Acetat-Zugabe eine Abnahme um nur eine pH-Einheit von pH 8 auf pH 7 aufgetreten war.
Ein Zusatz von Eisen(III)-chlorid brachte auch tatsächlich sofort die geforderte rotviolette Färbung, ohne daß ein Säurezusatz notwendig gewesen wäre.
Daraus läßt sich zweierlei folgern:

1. Die Benzoylierung des Hydroxylamins zur Hydroxamsäure gelingt unter den vorliegenden Bedingungen auch ohne Natriumacetat-Zusatz, da die Nucleophilie des Hydroxylamin-Stickstoffs offensichtlich zur Aufnahme eines Acylrestes groß genug ist.
   Dabei ist die Umsetzungsrate von Hydroxylamin zur Hydroxamsäure annähernd quantitativ, was bereits bei der Isolierung der Hydroxamsäure **40** aus einem acetatfreien Ansatz festgestellt wurde (vgl. 2.2.1.).

2. Der pH der Lösung verringert sich wegen Wegfalls der Acetat-Pufferwirkung in einen Bereich von pH 3, der günstig für die Ausbildung der rotvioletten Färbung ist (vgl. UV-spektroskopische Untersuchungen unter 3.1.1.).
   Falsch ist dabei die Feststellung BEINROTHs[4)], daß "unterhalb eines pH-Werts von 5 nur noch ein blaßbrauner Niederschlag auftritt, der auf Zusatz von Salzsäure in eine stark gelb gefärbte Lösung übergeht".

Da Acetate selbst mit Eisen(III)-Salzen rotgefärbte Acetat-Komplexe bilden[59], die im DAB 7[60] sogar zum Identitätsnachweis von Essigsäure herangezogen wurden, verbietet sich ohnehin der Einsatz von Natriumacetat für die zu untersuchende Farbreaktion.

---

59) F.COTTON und G.WILKINSON, Anorganische Chemie, 3.Aufl., S.921, Verlag Chemie, Weinheim 1974

60) Deutsches Arzneibuch, 7.Ausgabe 1968, S.519

2.5.2. Einfluß von Natriumacetat auf die Menge der zu bildenden Hydroxamsäure

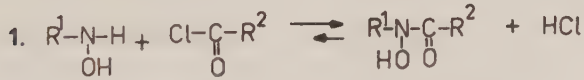
Wie in 2.3. dargelegt, entstehen aus dem reduzierten Chloramphenicol bei der Benzoylierung nach Ph.Eur. die O-Benzoyl-Benzhydroxamsäuren **41a,b** als Nebenprodukte, die keine Färbung mit Eisen(III)-chlorid geben. Diese können - je nach Temperatur der Benzoylierungslösung - bis zu 20%, bezogen auf die eingesetzte Ausgangsmenge, ausmachen und entziehen damit der Lösung einen beträchtlichen Teil der identitätsanzeigenden Hydroxamsäure **40**.

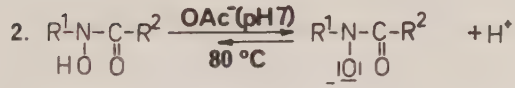
Bei früheren Versuchen, die Benzoylierung ohne Natriumacetat-Zusatz durchzuführen, war bereits aufgefallen, daß dabei eine Ausfällung der störenden Nebenprodukte ausgeblieben war.

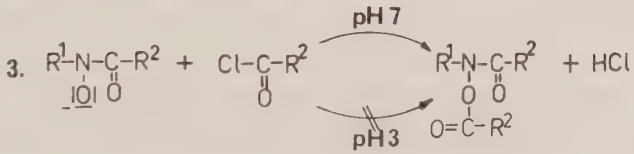
Dies konnte durch mehrere, mit verschiedenen Temperaturen und Benzoylchlorid-Mengen durchgeführten Umsetzungen in jedem Fall bestätigt werden: Selbst bei kaum erkaltetem Reaktionsansatz (ca. 80°C) und der doppelten offizinell vorgeschriebenen Säurechlorid-Menge (24-facher Überschuß!) trat keine Bildung - auch nicht in Spuren - von O-Benzoyl-Benzhydroxamsäuren auf. Auch ein DC aus der Ansatzlösung zeigte keine Zone, die mit den nach Acetat-Zugabe gebildeten Nebenprodukten identisch war.

Dagegen - und dies ist als Wichtigstes hervorzuheben - trat Umsetzung zur für die Identitätsreaktion entscheidenden Hydroxamsäure **40** in quantitativem Ausmaß ein.

Die Erklärung dieses Phänomens liegt aller Wahrscheinlichkeit nach in der Tatsache, daß bei erhöhter Temperatur die zunächst durch N-Benzoylierung (Reaktion 1.) des Hydroxylamins **21** gebildete Hydroxamsäure **40** weit stärker dissoziiert vorliegt, als dies ihr pK_a von ca. 9 bei Raumtemperatur zuließe.







Dieser Effekt wird durch die Gegenwart eines Natriumacetat-Überschusses noch verstärkt: Neben den freiwerdenden Protonen aus der entstehenden Salzsäure werden zusätzlich die Hydroxamsäure-Protonen abgefangen, so daß das Gleichgewicht der Reaktion 2. zur rechten Seite, zum Hydroxamat-Ion also, verlagert ist.

Der nun weit nucleophilere Hydroxamat-Sauerstoff steht deshalb für die Aufnahme des stark elektronenverarmten Benzoylrests aus dem überschüssigen Benzoylchlorid zur Verfügung, so daß es zur Bildung der unerwünschten O-Benzoyl-Benzhydro-

xamsäuren kommt (Reaktion 3.).
Entfällt der Natriumacetat-Zusatz und damit die Pufferwirkung, so wird offenbar die stärkere Dissoziation der Hydroxamsäure bei Reaktionstemperatur durch rapide sinkenden pH wieder zurückgedrängt: Es stehen nicht mehr genügend Hydroxamat-Ionen zur Aufnahme eines Benzoylrests zur Verfügung, so daß eine weitere Benzoylierung unterbleibt.
Die Reaktion kommt daher bei pH 3 von selbst zum Stillstand.

Erhöht man dagegen im nachhinein den pH wieder durch Zugabe der gleichen Menge Natriumacetat, so kann überschüssig vorhandenes Benzoylchlorid wieder am Hydroxamat-Sauerstoff der nunmehr wieder stärker dissoziiert vorliegenden Hydroxamsäure angreifen und man beobachtet wiederum Ausfallen der O-Benzoyl-Hydroxamsäuren.

Faßt man die Auswirkungen zusammen, die der Zusatz von Natriumacetat auf die durchzuführende Identitätsreaktion hat, so sind folgende Punkte herauszustellen:

1. Die Pufferwirkung von Natriumacetat bewirkt ein Abfangen der bei der Reaktion freiwerdenden Salzsäure und bringt die Lösung nach Benzoylierung auf einen pH-Wert von 7.
   Der Hydroxamsäure-Eisen(III)-Komplex zeigt dagegen erst bei einem pH unter 6 die geforderte rotviolette Farbe, so daß nachträglich Salzsäure zugesetzt werden muß.
2. Die verstärkte Dissoziation der im ersten Acylierungs-

schritt gebildeten Hydroxamsäure bei erhöhter Temperatur bewirkt unter Natriumacetat-Einfluß, daß ein weiterer Benzoylrest an das Hydroxamat-Ion zur Bildung von O-Benzoyl-Benzhydroxamsäuren treten kann. Diese Verbindungen fallen anschließend aus und geben selbst keine Eisenchlorid-Reaktion mehr. Die Menge der nachzuweisenden Hydroxamsäure wird dadurch erheblich vermindert.

3. Erst bei niedrigen Benzoylierungstemperaturen können nach Acetat-Zusatz die Nebenprodukte in ihrer Menge gering gehalten werden; dies erfordert einen sonst vermeidbaren Zeitaufwand.
4. Durch den höheren pH der Lösung nach Natriumacetat-Zusatz wird das im Überschuß eingesetzte Benzoylchlorid in weit größerem Maße verseift, als dies ohne Acetat-Zugabe der Fall ist; die so entstehende Benzoesäure kann, da sie ähnlich gefärbte Eisensalze oder -komplexe bildet[61)], den Nachweis nicht unerheblich stören.

Die Hydroxamsäure-Reaktion, die letztlich den Identitätsbeweis für Chloramphenicol erbringen soll, erhält also ohne Natriumacetat-Zusatz eine weitaus größere Empfindlichkeit. Es findet sich nicht ein einziger Grund, der den Einsatz des sonst bei Acylierungen durchaus üblichen abpuffernden Salzes für diese Reaktion weiterhin rechtfertigt.

---

61) F.HEIN, Chemie der Komplexverbindungen, S.232, S.Hirzel Verlag, Leipzig 1971

3. Die Farbreaktion mit Eisen(III)-chlorid (Hydroxamsäure-Reaktion)

Die Farbreaktion von Hydroxamsäuren mit Eisen(III)-chlorid stellt eine gebräuchliche Nachweismethode für Verbindungen dar, die sich durch einfache Operationen in Hydroxamsäuren überführen lassen.

Offizinell wird sie beispielsweise zum Nachweis der Penicilline DAB 7[62] sowie Calcium-Pantothenat Ph.Eur.III[63] benutzt. Zur "Identitätsreaktion auf Ester" läßt Ph.Eur.I[64] ebenfalls die Hydroxamsäure-Reaktion durchführen.

Allen diesen Prüfungen gemeinsam ist die Ausbildung eines Eisen(III)-Komplexes, bei dem drei Moleküle Hydroxamsäure mit einem Eisen(III)-Ion zu einem Chelat[48] (s. S.49) zusammentreten.

3.1. Parameter für die Ausbildung der Farbe

3.1.1. pH-Einfluß

Der gelöste Eisen-Komplex weist in allen Fällen eine braune bis tiefviolette Farbe auf, die bei einem pH unter 5 am stabilsten ist und die größte Farbtiefe zeigt. Bei größeren pH-Werten geht die Farbe in rotbraun über, wobei bald Ausfällung des Komplexes bzw. von Eisenhydroxid erfolgt.

---

62) Deutsches Arzneibuch, 7.Ausgabe 1968, S.765

63) Europäisches Arzneibuch Bd. III, S.205

64) Europäisches Arzneibuch Bd. I, S.117

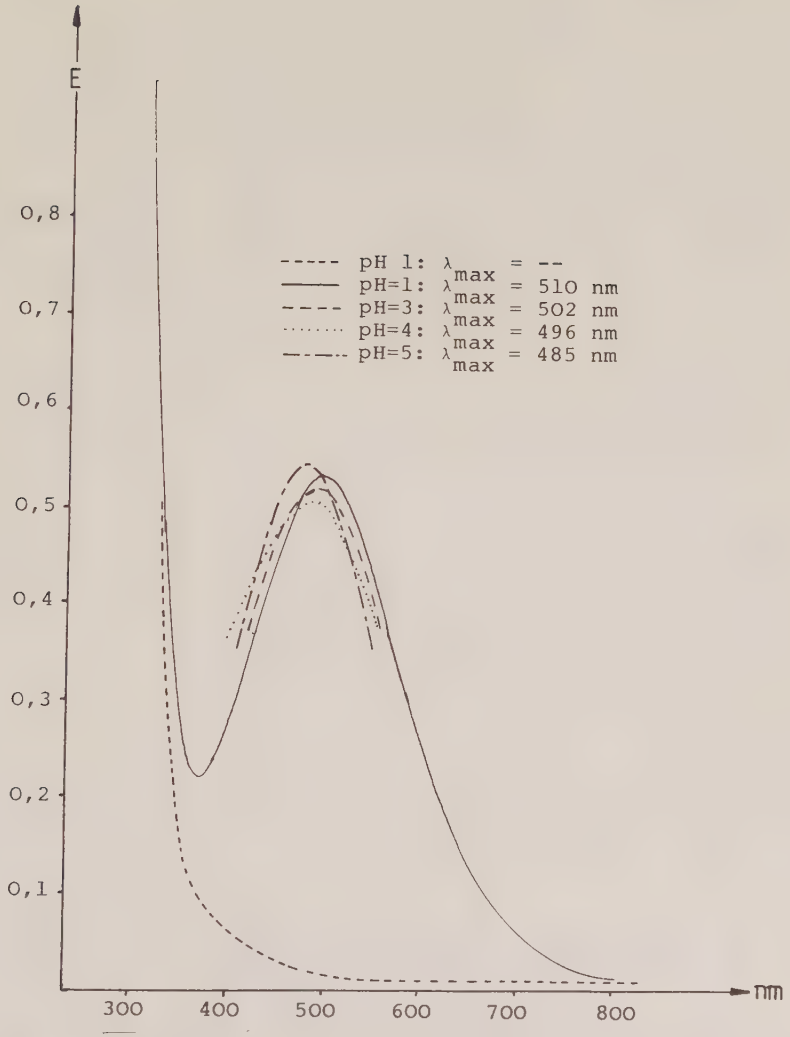
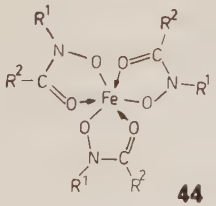
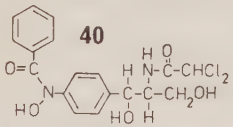
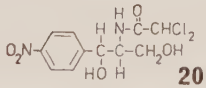


Abb. 11: UV-Spektren des gelösten Hydroxamsäure-Eisen(III)-Komplexes **44** von Chloramphenicol bei verschiedenen pH-Werten.
(Chloramphenicol-Konzentration ca. 50 mg / 100 ml)

VERBINDUNG	ABSORPTIONSMAXIMUM IM SICHTBAREN			UV-BEREICH	ε
 **44**	pH	λ_{max}	FARBE	---	
	< 1	----	HELLGELB	270	
	1	510	VIOLETT	---	
	3	502	ROTVIOLETT	---	1950
	4	496	VIOLETTROT	---	
	5	485	BRAUNROT	---	
	6	---	HELLGELB	276	
 **40**	-----		FARBLOS	257	5650
 **20**	-----		FARBLOS	278	935
GEMISCH **40**:**20** IM VERHÄLTNIS 3:2	---		FARBLOS	268	
40 VOR ZUSATZ VON EISEN(III)-CHLORID	-- --		HELLGELB	274	
ISOLIERTER EISEN-KOMPLEX **44**	pH 1	430	ORANGE	-	
	pH 3	502	ROTVIOLETT		1950

Tab. 2: Absorptionsmaxima der Elektronenspektren von Chloramphenicol (**20**), dessen Hydroxamsäure **40** sowie deren Eisen-Komplex **44**

$[\lambda]$ = nm; $[\varepsilon] = \frac{\text{Liter}}{\text{Mol} \cdot \text{cm}}$

Senkt man den pH dagegen unter 1, so weicht die rotviolette Farbe einer hellgelben, so daß für die Ausbildung der charakteristischen Färbung ein pH zwischen 1 und 5 eingehalten werden muß.

Dies bestätigten eigene UV-spektroskopische Untersuchungen: Der aus Chloramphenicol nach Ph.Eur. entstandene Eisen-Komplex **44** war rotviolett gefärbt und zeigte bei pH 3 (entsprechend dem pH ohne Natriumacetat-Zusatz) ein Absorptionsamximum bei einer Wellenlänge von 502 nm (Abb. 11).

Erhöht man den pH durch Zugabe von Natriumacetat nachträglich, so stellt man eine hypsochrome Verschiebung des Absorptionsmaximums fest, das bei einem pH von 4 bei 496 nm, bei pH 5 bei 485 nm liegt (vgl. Tab. 2), wobei die Farbe der Lösung mehr und mehr ins Rötlichbraune übergeht. Durch pH-Senkung verschiebt sich das Maximum dagegen zu größeren Wellenlängen (510 nm bei pH 1), und die Lösung nimmt eine tiefviolette Färbung an.

Ein pH-Wert über 5 und unter 1 hat Entfärbung zur Folge, wobei im ersten Fall ein rotbrauner Niederschlag ausfällt. Die Lösungen und Filtrate zeigen danach auch keinerlei Absorptionen mehr im sichtbaren Bereich, während man im UV-Bereich bei beiden entfärbten Lösungen ein Absorptionsmaximum findet, und zwar für die stark saure Lösung bei 270 nm, für das Filtrat mit pH 6 bei 276 nm.

Da sich noch, wie dc nachzuweisen, nicht umgesetztes Chloramphenicol in der Lösung befindet, dieses aber ein UV-Maximum bei 278 nm aufweist, lag der Schluß nahe, daß es sich

bei den Absorptionskurven der entfärbten Lösungen um Mischkurven aus denen des Chloramphenicols und dessen Benzhydroxamsäure **40** handeln könnte.

Tatsächlich konnte durch Aufzeichnen der Extinktionskurven von Chloramphenicol, der Benzhydroxamsäure **40** sowie eines Gemischs beider gezeigt werden, daß das Maximum der Mischfunktion um so mehr zu kürzeren Wellenlängen hin verschoben wird, je weniger Anteil an Chloramphenicol im Gemisch vorhanden ist.

Die Hydroxamsäure allein hat ihre größte Extinktion bei 257 nm, Chloramphenicol dagegen bei 278 nm. Das Maximum einer Mischfunktion beider ist demnach - wie beobachtet - zwischen diesen beiden Werten zu erwarten.

Zudem nimmt die Extinktionsdifferenz zwischen relativem Minimum und relativem Maximum der Kurven, bezogen auf die absolute Extinktion, um so mehr zu, je weniger Hydroxamsäure gegenüber Chloramphenicol in der Lösung enthalten ist.

Da das Filtrat der entfärbten Hydroxamsäure-Eisenkomplex-Lösung mit einem pH-Wert von 6 ein längerwelliges Absorptionsmaximum (276 nm) als die stark saure Lösung (270 nm) zeigt und die Extinktionsdifferenz relativ groß ist, läßt sich schließen, daß es sich bei dem ausgefallenen Niederschlag um das Eisenchelat von **40** handelt, das der Lösung einen großen Teil der Hydroxamsäure entzieht und den Chloramphenicol-Anteil überwiegen läßt.

3.1.2. Lösungsmittel-Einfluß

Neben dem pH-Wert ist zur erfolgreichen Durchführung der Identitätsreaktion die Löslichkeit des Eisen-Hydroxamsäure-Komplexes von entscheidender Wichtigkeit.
Abhängig von der Polarität der Reste R^1 und R^2 (vgl. **44** in Tab. 2), sind die Eisenchelate teils nur in wäßrig-alkoholischen, teils aber auch in unpolareren Lösungsmitteln, wie Chloroform oder Ether, löslich.
Die freien Hydroxamsäuren zeigen dagegen in der Regel weniger polare Eigenschaften, so daß diese oft aus etherischer oder Chloroform-Lösung durch Zugabe von Eisenchlorid als violette Farbkomplexe in die wäßrige Phase zu schütteln sind.
Es ist deshalb bei der Durchführung der Nachweisreaktion auf aromatische Nitrogruppen über die Hydroxylaminstufe stets darauf zu achten, daß der identitätsanzeigende Eisenkomplex im jeweiligen Lösungsmittel oder -Gemisch hinreichend löslich ist.
Dies ist für Chloramphenicol durch die Bedingungen der Ph.Eur. sehr gut gewährleistet.

3.1.3. Komplexstabilität

Eine Lösung von Natrium-EDTA ist aufgrund höherer Komplex-Stabilität des Eisen-EDTA-Komplexes (pK = 25,1)[65] in der Lage, das Eisen aus dem Hydroxamsäure-Chelat (pK = 14,1)[66] zu verdrängen.
Dadurch ist es möglich, die freie Hydroxamsäure aus ihrem Komplex zurückzugewinnen (vgl. 3.2.).

3.2. Isolierung und Charakterisierung des Hydroxamsäure-Eisenchelats

Da das Zustandekommen des Hydroxamsäure-Eisen(III)-Komplexes **44** unabdingbar für den positiven Ausgang der Ph.Eur.-Reaktion ist und letztlich das Endprodukt des gesamten zuvor behandelten Reaktionsverlaufs darstellt, lag es nahe, das Eisen-Chelat der Benzhydroxamsäure **40** aus der Prüflösung zu isolieren und zu charakterisieren.
Wie unter 2.2.1. geschildert, kann durch geeignete Extraktionsverfahren die Hydroxamsäure **40** aus einem nur kurzzeitig der Zinkstaub-Behandlung ausgesetzten und Natriumacetat-freien

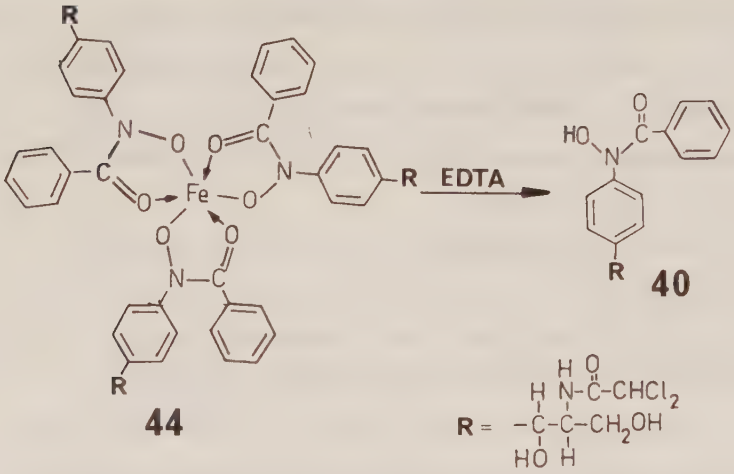
---

65) G.SCHWARZENBACH, Helv. Chim. Acta 34, 576 (1951)

66) bezogen auf Phenylbenzhydroxamsäure: A.K.MAJUMDAR, N-Benzoylphenylhydroxylamine and Its Analogues, Pergamon Press, Oxford 1972

Ansatz weitgehend rein ausgeschüttelt werden.
Nach Zusatz von Eisen(III)-chlorid-Lösung zu den vereinigten und eingeengten Etherphasen geht die Hydroxamsäure als relativ gut wasserlöslicher Eisenkomplex mit der charakteristischen rotvioletten Farbe in die wäßrige Phase über, während die unerwünschten"Begleitstoffe" (Benzoesäure und nicht umgesetztes Chloramphenicol) weitgehend in der organischen Phase zurückbleiben bzw. durch Gegenschütteln mit Ether entfernt werden können.
Durch Einstellung eines pH-Werts von 6 bis 7 mit Hydrogencarbonat-Lösung färbt sich die violette Lösung rötlich-braun und es tritt sofort Ausfällung eines rotbraunen, zähen Niederschlags ein, der sich schwer abtrennen läßt.
Durch mehrere Umfällungen wurde letztendlich ein teerartiges, nach dem Trocknen in violett-braun glänzende Blättchen zerfallendes Produkt erhalten, das hygroskopische Eigenschaften aufwies.
Ein DC des Komplexes **44** zeigte eine Zone mit starkem tailing beim R_f der freien Hydroxamsäure **40**; ansonsten waren keine Verunreinigungen zu erkennen.
Beim Lösen des Chelats in verdünntem Ethanol und Zusatz einer Natrium-EDTA-Lösung tritt spontane Entfärbung ein, und die freie Hydroxamsäure kann mit Ether ausgeschüttelt werden.
Die so erhaltene Benzhydroxamsäure war zwar DC-rein, jedoch nicht zur Kristallisation zu bringen. Als öliges Harz gab sie dennoch - von geringen, wohl durch EDTA bedingte

Verunreinigungen abgesehen - das gleiche ^{1}H-NMR-Spektrum wie die unter 2.2.1. beschriebene Hydroxamsäure **40** .



Indes konnte der Eisenkomplex **44** selbst nicht NMR-spektroskopisch vermessen werden.

Nach KELLER[67] wird die Kernspin-Relaxationszeit durch die Elektron-Kern-Wechselwirkung in paramagnetischen Komplexen derart verkürzt, daß keine Protonenspektren erhalten werden können, denn die ^{1}H-Linienbreite in Hertz ist umgekehrt proportional zur Relaxationszeit.

---

67) H.J.KELLER, NMR-Untersuchungen an Komplexverbindungen, aus der Reihe: NMR - Grundlagen und Fortschritte (Hrsg. P.DIEHL, E.FINCK und R.KOSFELD), Vol.2, S.53, Springer Verlag, Berlin 1970

Tatsächlich waren nur diffuse und breite Signale zu erkennen, die keinerlei Zuordnung erlaubten.
Auch in der Literatur war kein einziger Hydroxamsäure-Eisen(III)-Komplex beschrieben, der NMR-spektroskopisch vermessen worden war.
So blieb zur Charakterisierung nur die IR- und Massenspektroskopie sowie die Elementaranalyse.
Letztere stimmte mit einer maximalen Abweichung von 0,29 Prozentpunkten in Anbetracht der Hygroskopizität recht gut mit den errechneten Werten überein, wenn man ein Molekül-Verhältnis von 1:3 (Eisen zu Hydroxamsäure) zugrundelegt.

Dies bestätigte auch die u.a. von ZINNER[48] postulierte Struktur der Hydroxamsäure-Eisen(III)-Komplexe.

In diesen müssen - bedingt durch die Koordinationszahl 6 - deshalb die Liganden in oktaedrischer Anordnung um das zentrale Eisenion gruppiert sein, was die Ausbildung von drei senkrecht zueinanderstehenden Fünfringen zur Folge hat.
Dem aus Chloramphenicol nach Ph.Eur. entstandenen Hydroxamsäure-Eisen-Komplex dürfte deshalb mit großer Sicherheit die in Abb. 12 dargestellte räumliche Struktur zukommen.

Im IR-Spektrum (KBr) liegt die Valenzschwingungsbande des Hydroxamsäure-Carbonyls bei 1585 cm^{-1} und damit gegenüber der freien Hydroxamsäure um 35 cm^{-1} zu kleineren Wellenzahlen hin verschoben. Dies spricht - analog zu den unter 2.1. beschriebenen Hydroxamsäure-Bor-Heterocyclen **37** und **39** - für eine koordinative Bindung des Carbonylsauerstoffs zum Eisen.

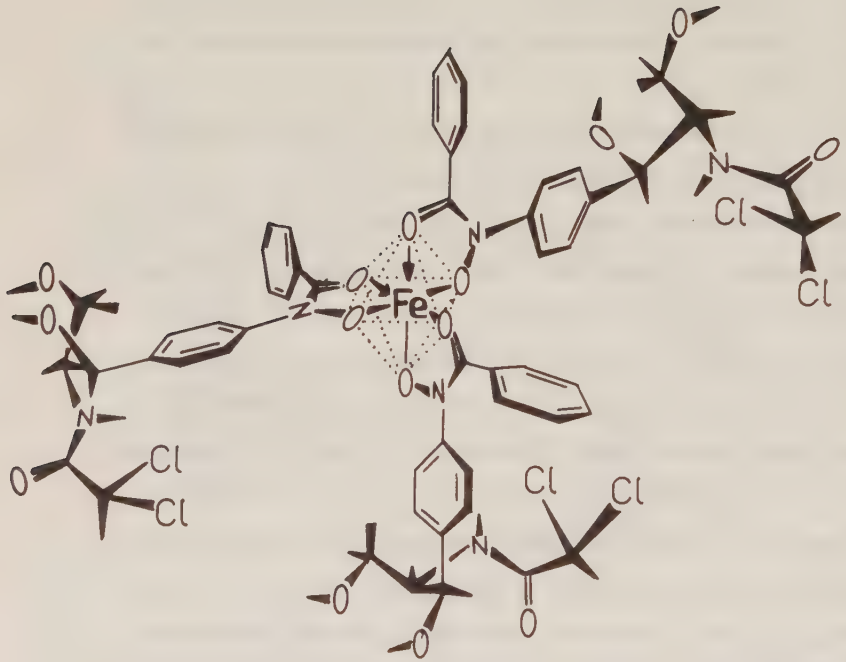


Abb. 12: Eisen(III)-Komplex **44** der aus Chloramphenicol nach Ph.Eur. entstehenden Benzhydroxamsäure **40** in räumlicher Anordnung

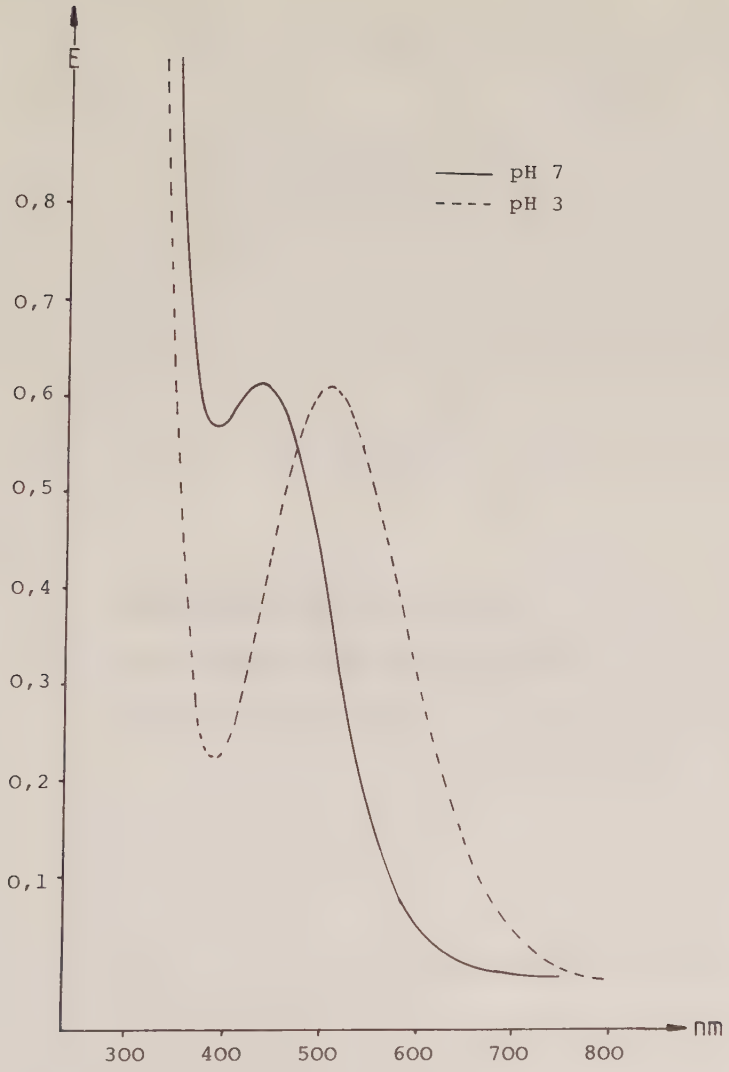


Abb. 13: UV-Spektrum des isolierten Eisen(III)-Hydroxamsäure-Komplexes **44** bei verschiedenem pH;
(c = 17,5 mg/100 ml; Lösungsmittel Ethanol 25%)

Bei einem Molekulargewicht von 1292 war im Massenspektrum - auch bei Anwendung der Felddesorptions-Technik - kein Molpeak zu erhalten.
Wie aus Tab.2 (S.86) zu entnehmen ist, hat der isolierte Eisenkomplex - genau wie die Prüflösung nach Ph.Eur. - das charakteristische Absorptionsmaximum im sichtbaren Licht bei einer Wellenlänge von 502 nm (pH 3), was einer rotvioletten Farbe entspricht.
Bei pH 7 dagegen zeigt das in verdünntem Ethanol gelöste Eisenchelat **44** eine orangerote Farbe und hat seine maximale Absorption nur noch bei 430 nm (Abb. 13).

Damit war die letzte und für den Ausgang der Prüfung entscheidende Verbindung isoliert und charakterisiert und der gesamte Reaktionsverlauf für die Identitätsprüfung auf Chloramphenicol nach Ph.Eur. geklärt.

4. Folgerungen für die Abwandlung der Arzneibuchvorschrift

Die Identitätsreaktion A für Chloramphenicol im Europäischen Arzneibuch stellt grundsätzlich eine gut reproduzierbare Methode zum qualitativen Nachweis des Antibiotikums dar. Aus den durchgeführten Untersuchungen ging jedoch hervor, daß die Empfindlichkeit an vielen Stellen des Reaktionsablaufs durch verhältnismäßig geringe Änderungen erheblich gesteigert werden kann, da störende Nebenprodukte vermieden werden.
Zudem kann eine Verkürzung sowie eine nicht unbeachtliche Vereinfachung der Reaktionsdurchführung erreicht werden, die gerade für Routineprüfungen von Interesse sein dürften.

Folgende Abwandlungen seien empfohlen:

1. *Verkürzung der 10-minütigen Wasserbadbehandlung mit Zinkstaub auf 5 Minuten.*
   Dadurch wird eine Enthalogenierung des Antibiotikums weitgehend vermieden, während die Reduktion der aromatischen Nitrogruppe zum Hydroxylamin nach wie vor annähernd quantitativ abläuft.

2. *Unbedingter Verzicht auf einen Natriumacetat-Zusatz vor der Benzoylierung.*
   Die Reaktionslösung stellt sich damit von selbst auf pH 3 ein, wodurch eine Weiterreaktion zur unerwünschten O-Benzoyl-Benzhydroxamsäure vermieden wird; die Hydroxamsäure-Lösung bleibt damit über längere Zeit stabil.

Daraus folgt, daß

a) *ein nachträglicher Salzsäure-Zusatz entfallen kann*, da der Hydroxamsäure-Eisen-Komplex **44** bereits bei pH 3 seine charakteristische Farbe zeigt,

b) *ein Erkaltenlassen der Lösung nach Wasserbadbehandlung nicht mehr nötig ist*, da wegen Entfalls des Natriumacetat-Zusatzes eine O-Benzoylierung ohnehin nicht auftritt, die sonst nur im erkalteten Reaktionsansatz relativ klein gehalten werden konnte. Außerdem wird ein vorzeitiges, Hydroxylamin verminderndes Ausfallen der Azoxyverbindungen **22** vermieden,

c) *Benzoesäure als* gleichfalls Eisenkomplex-bildende *Begleitsubstanz* infolge des kleineren pH der Lösung *in weit geringerem Maße* durch Verseifung von Benzoylchlorid *entsteht*.

3. *Der große Überschuß an Benzoylchlorid kann durch Zugabe von nur einem Tropfen gesenkt werden*.

Durch diese Änderung kann die vereinfachte Prüfung in weniger als der Hälfte der üblichen Zeit bei höherer Empfindlichkeit durchgeführt werden.

Eine abgewandelte Arzneibuchvorschrift für die Identitätsreaktion A auf *Chloramphenicolum Ph.Eur.* könnte deshalb wie folgt lauten:

"Etwa 10 mg Substanz werden in 1 ml Äthanol 50 Prozent (V/V) gelöst. Die Lösung wird nach Zugabe von 3 ml einer 1prozentigen Lösung (G/V) von Calciumchlorid *R* und ca. 50 mg Zinkstaub *R* im Wasserbad 5 Minuten lang erwärmt. Nach dem Filtrieren wird 1 Tropfen Benzoylchlorid *R* hinzugefügt und 1 Minute lang geschüttelt. Die Lösung wird mit 0,5 ml Eisen(III)chlorid-Lösung *R1* versetzt und gemischt. Es entsteht eine rotviolette Färbung.
Die Prüfung wird ohne Zusatz von Zinkstaub *R* wiederholt. Es entsteht keine Färbung."

5. Die Umsetzung zum Hydroxylamin reduzierter Nitroverbindungen mit Brom im sauren Milieu

Im Rahmen ihrer Untersuchungen zur bromometrischen Gehaltsbestimmung von Chloramphenicol hatten AWE und STOHLMANN[5] das Ausfallen von 2,4,6-Tribromanilin (**45**) beobachtet, wenn zu der reduzierten Nitroverbindung Bromwasser bzw. Kaliumbromid und -bromat sowie Salzsäure zugesetzt wird. Dabei nahm die Menge an ausgefallenem **45** umso mehr zu, je milder die Reaktionsbedingungen der vorausgegangenen Reduktion waren, insbesondere dann, wenn mit Hilfe von Zinkstaub im neutralen Milieu die Nitroverbindung nur kurze Zeit einer Wärmebehandlung ausgesetzt wird.
So geben die Autoren als Bedingungen für eine vorgeschlagene Identitätsprüfung die zehnminütige Wasserbadbehandlung einer wäßrig-alkoholischen Lösung von Chloramphenicol in Gegenwart von Zinkstaub an, wonach durch Salzsäure- und Bromwasser-Zusatz ein Niederschlag von **45** auftreten soll, das über seinen Schmelzpunkt identifiziert wird.
Die Entstehung von Tribromanilin wird damit erklärt, daß unter milden Reduktionsbedingungen zwar die aromatische Nitrogruppe zum Amin reduziert wird, jedoch noch keine Hydrolyse der Säureamid-Funktion in der Seitenkette eintritt. Die damit - so AWE - weniger fest an den aromatischen Kern gebundene Propandiol-Seitenkette soll deshalb durch Brom oxidativ abgespalten werden können, so daß auch in p-Stellung zur Aminogruppe eine Substitution durch Brom zur Bildung von **45** stattfinden kann.

Bei längerer Reduktionsdauer dagegen - insbesondere bei niedrigerem pH - soll die Amidfunktion hydrolytisch gespalten werden und die nun fester an den aromatischen Kern gebundene Kohlenstoffkette sich einer oxidativen Spaltung entziehen: Die Bildung von Tribromanilin unterbleibt.

Diese Darlegungen widersprachen in einem wichtigen Punkt den von uns gewonnenen Ergebnissen aus der Untersuchung der Identitätsreaktion A von Chloramphenicol nach Ph.Eur.[3]. Die dort vorgeschriebene Zinkstaub-Reduktion nämlich entspricht - bis auf den Zusatz von Calciumchlorid - auch in den Mengenverhältnissen exakt derjenigen, die von AWE und STOHLMANN[5] vorgeschlagen wurde und bis zur Aminstufe des Chloramphenicols führen soll.
Daß dies unter den genannten Bedingungen nicht, oder allenfalls in Spuren eintritt, hatten die Versuche unter 1. gezeigt, die eindeutig die Hydroxylaminstufe als Reduktionsprodukt belegten.
Somit mußte auch die Entstehung von **45** durch Umsetzung mit Säure und Brom nach AWE und STOHLMANN[5] aus dem entsprechenden Hydroxylamin erklärt werden.

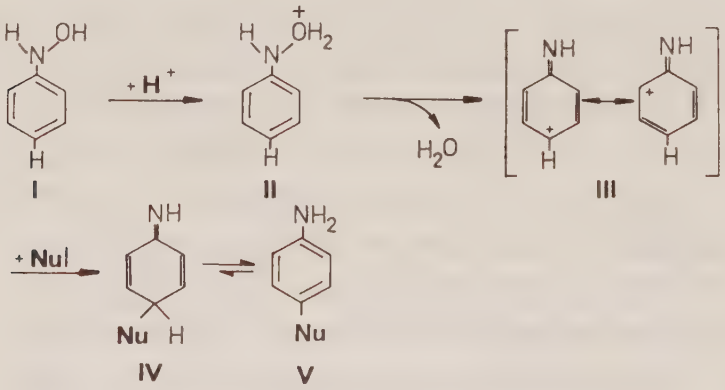
BAMBERGER[68] hatte bereits 1894 beobachtet, daß sich

---

68) E.BAMBERGER, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 27, 1347 und 1548 (1894)

Phenylhydroxylamin in Gegenwart von Mineralsäuren in p-Aminophenol umlagert. Analoge Erscheinungen konnte er auch anhand anderer, insbesondere kernsubstituierter Phenylhydroxylamine bestätigen[69,70].

HUGHES und INGOLD[71] schlugen in neueren Untersuchungen für die nach ihrem Entdecker benannte BAMBERGER-Umlagerung einen nucleophilen, intermolekularen Reaktionsmechanismus vor:



Danach kann nach O-Protonierung (II) des Hydroxylamins I und anschließender Dehydratisierung ein resonanzstabilisiertes Carbeniumion III entstehen, das zur Aufnahme eines

---

69) E.BAMBERGER, Justus Liebigs Ann. Chem. 424, 297 (1921)

70) E.BAMBERGER, ibid. 441, 297 (1925)

71) E.D.HUGHES und C.K.INGOLD, Quart. Rev. 6, 45 (1952)

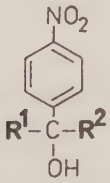
Nucleophils (Nu|) befähigt ist (**IV**). Durch Rückbildung des aromatischen Zustandes entsteht ein substituiertes Amin **V**.

Dieser Mechanismus ist auch für die Umsetzung der zu Hydroxylaminen reduzierten Nitroverbindungen mit Säure und Brom nach AWE und STOHLMANN[5] anzunehmen.

5.1. Untersuchung von Modellsubstanzen

Zur Überprüfung dieser Hypothese wurden Modellversuche mit Substanzen durchgeführt, die in p-Stellung zur aromatischen Nitrogruppe eine benzylische Hydroxylgruppe aufwiesen; damit war die Substitution an C^1 der Seitenkette sehr ähnlich derjenigen des Chloramphenicols.

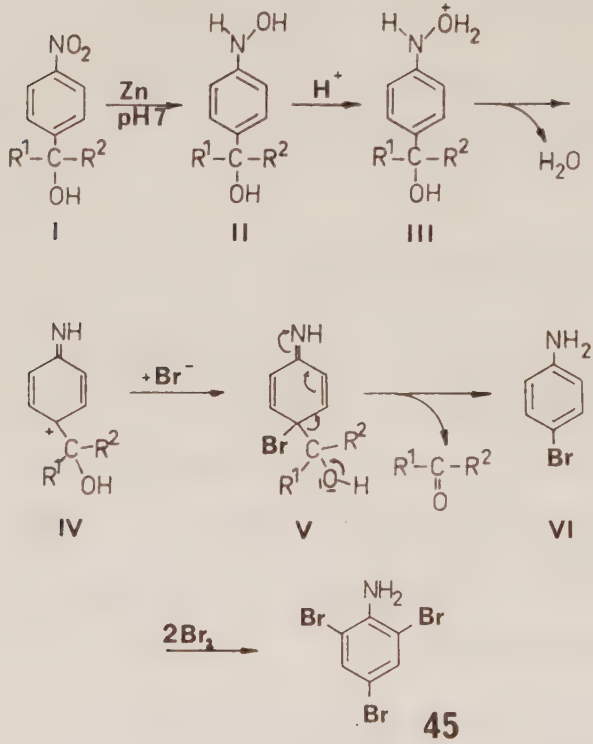
Um allgemeingültige Aussagen machen zu können, erfolgte die Untersuchung unter Einbeziehung von primären, sekundären und tertiären Alkoholen.



	R^1	R^2
6	H	H
46	H	CH_3
47	CH_3	CH_3

Im einzelnen wurden neben 4-Nitrobenzylalkohol (**6**) als primärem Alkohol auch 4-Nitrophenylethanol (**46**) und das tertiäre 2-(4-Nitrophenyl)-propan-2-ol (**47**) zur Klärung

des Reaktionsmechanismus herangezogen.



Legt man den von HUGHES und INGOLD[71] postulierten Reaktionsverlauf der BAMBERGER-Umlagerung auch für die Modellverbindungen **6**, **46** und **47** (**I**) zugrunde, so müßte aus den durch Zinkstaub-Reduktion entstandenen Hydroxylaminen **II** nach O-Protonierung am Hydroxylamin-Sauerstoff (**III**) und anschließender Dehydratisierung ein Carbeniumion der Struktur **IV** entstehen, welches nun zunächst nach

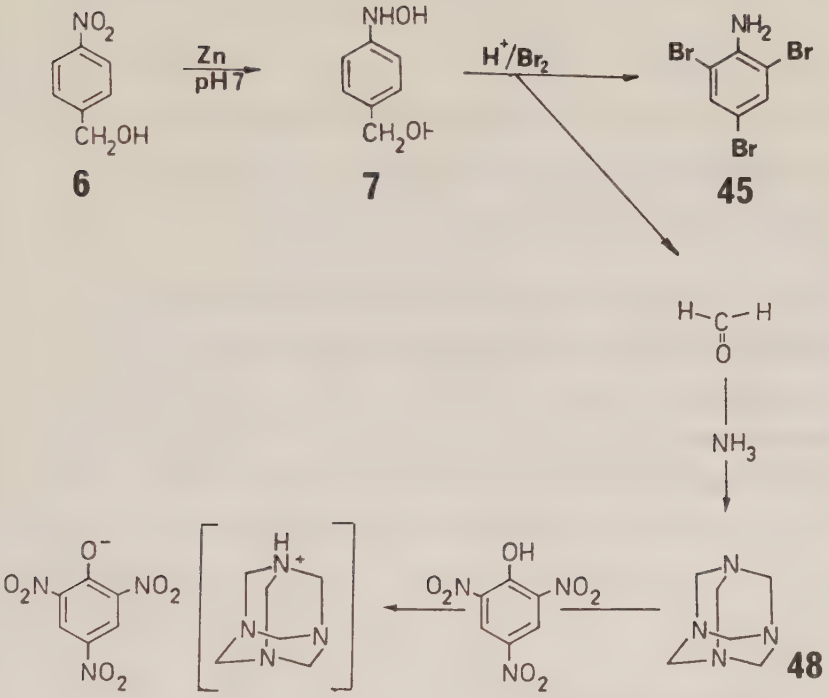
Brom- bzw. Bromid/Bromat-Zugabe ein Bromidion als Nucleophil in p-Stellung anlagert (**V**). Unter Rückbildung der aromatischen Struktur wird im nächsten Schritt durch Fragmentierung der p-ständigen Seitenkette primär 4-Bromanilin (**VI**) gebildet, woraus durch elektrophile Substitution 2,4,6-Tribromanilin (**45**) entsteht.

Zur Unterstützung dieses vermuteten Reaktionsverlaufs war es entscheidend,

1. die Hydroxylaminstufe der einzelnen Modellverbindungen nachzuweisen und damit die von AWE und STOHLMANN[5] postulierte Aminstufe auszuschließen,
2. das Fragment der vom Kern abgespaltenen Seitenkette zu ermitteln, und zwar
   - bei **6**: Formaldehyd
   - bei **46**: Acetaldehyd
   - bei **47**: Aceton,
3. Tribromanilin (**45**) als ausfallendes Endprodukt zu identifizieren und mengenmäßig zu charakterisieren.

5.1.1. 4-Nitrobenzylalkohol

Aus 4-Nitrobenzylalkohol (**6**) entsteht bei der Zinkstaub-Reduktion im neutralen Milieu analog Ph.Eur.[3] das entsprechende Hydroxylamin **7** (vgl. 1.1.2.1.).
Auch unter den von AWE und STOHLMANN[5] genannten Bedingungen war neben nicht umgesetzter Nitroverbindung die Hydroxylaminstufe eindeutig dc, durch positive TTC-Reaktion sowie durch Darstellung des Bisnitrons **8** nachzuweisen.
Die noch warme, vom Zinkschlamm befreite Lösung wurde anschließend mit Kaliumbromid und -bromat sowie Salzsäure versetzt, wodurch zunächst wegen ausgeschiedenen Broms eine Braunfärbung, später eine vorübergehende Grünfärbung eintrat. Diese dürfte auf partielle Oxidation des Hydroxylamins zur Nitrosoverbindung zurückzuführen sein.
Nach ca. fünf Minuten trat dann plötzlich eine Trübung mit nachfolgendem Ausfall eines rötlich-weißen Produkts auf, das nach Abtrennen und Aufarbeiten durch Vergleich mit authentischer Substanz eindeutig als 2,4,6-Tribromanilin (**45**) identifiziert werden konnte.
Dabei betrug die Menge des Niederschlags von **45** 74%, bezogen auf die Ausgangsmenge von **6**.
Zum Nachweis des abgespaltenen Formaldehyds wurde die Lösung einer Wasserdampfdestillation unterworfen, um eine Abtrennung von noch im Ansatz befindlichen, die Nachweise möglicherweise störenden Verbindungen zu erreichen.



Im Wasserdampfdestillat konnte daraufhin Formaldehyd eindeutig

1. durch positive Chromotropsäure-Reaktion[72],
2. durch ein violettes Kondensationsprodukt mit Guajakol[73],
3. durch Rotfärbung mit Phenylhydrazin und Hexacyanoferrat(III)[74] sowie

---

72) Deutsches Arzneibuch, 8.Ausgabe 1978, S.237

73) Pharmacopoea Helvetica, Editio Sexta 1971, Bd.III, S.493

74) W.FRIESE und F.RICHTSTEIGER, Pharm. Zentralhalle Dtschl. 81, 83 (1940)

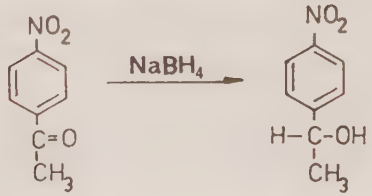
4. durch Überführung mit konz. Ammoniak in Methenamin (**48**) und Identifizierung als dessen Pikrat[75)]

nachgewiesen werden.

Dabei konnte eine denkbare Anwesenheit von Ameisensäure als Oxidationsprodukt von Formaldehyd durch überschüssiges Brom u.a. aufgrund des neutralen pH-Werts im Wasserdampf-Destillat weitgehend ausgeschlossen werden.

Blindproben, bei denen einerseits frisch reduzierter 4-Nitrobenzylalkohol (**6**) ohne Bromeinwirkung, andererseits die nicht reduzierte Verbindung bromiert und einer Wasserdampfdestillation unterworfen wurde, zeigten keine Spuren von Formaldehyd, so daß dieser ohne Zweifel nur aus dem mit Säure und Brom umgesetzten Hydroxylamin **7** stammen konnte.

5.1.2. 4-Nitrophenylethanol



49 **46**

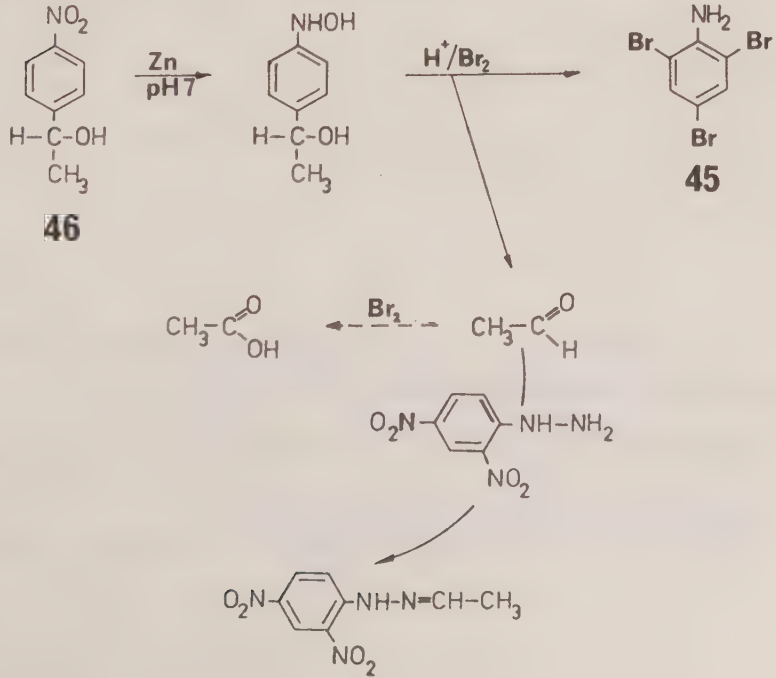
Das aus 4-Nitroacetophenon (**49**) durch Reduktion mit Natriumborhydrid als gelbes Öl[76)] erhaltene 4-Nitrophenyl-

---

75) Pharmacopoea Nordica 1963, Monographie Formaldehyd

76) A.H.FORD-MOORE und H.N.RYDON, J. Chem. Soc. 1946, 680

ethanol (**46**) wurde ebenfalls nach Reduktion zum entsprechenden Hydroxylamin (dc eindeutig nachweisbar) mit Salzsäure angesäuert und mit Brom umgesetzt.
Die Reaktion verlief vollkommen analog derjenigen mit **6** als Ausgangsprodukt: Es fiel sehr schnell ein Niederschlag von Tribromanilin (**45**) aus, der insgesamt 71% der theoretisch möglichen Menge ergab.
Da in diesem Fall Acetaldehyd als Spaltprodukt zu erwarten war, dieser jedoch auch aus dem in der Reaktionslösung enthaltenen Ethanol durch Bromeinwirkung hätte entstehen können, wurde die Zinkstaub-Reduktion in einem Methanol-Wasser-Gemisch durchgeführt, welches - von geringen Löslichkeitsunterschieden der Nitroverbindung abgesehen - keinen Einfluß auf den Verlauf der Reduktion hatte.



Damit war sichergestellt, daß der nachzuweisende Acetaldehyd nur aus dem Hydroxylamin von **46** entstanden sein konnte.

Tatsächlich ergab die vom ausgefallenen **45** abgetrennte Lösung einen eindeutigen Nachweis für Acetaldehyd nach SIMON-AWE[77,78] mit Natriumpentacyanonitrosylferrat(II) und Piperidin, wobei die Blaufärbung durch NaOH-Zugabe nach Rosa umschlug.
Zudem konnte die Existenz von Acetaldehyd durch sein 2,4-Dinitrophenylhydrazon aus der zu untersuchenden Lösung und Vergleich mit authentischem Material gesichert werden.

Neben Acetaldehyd waren jedoch auch geringe Mengen von Essigsäure mit Lanthannitrat[79] nachweisbar, die durch Bromeinwirkung auf den sehr oxidationsempfindlichen Aldehyd entstanden waren.

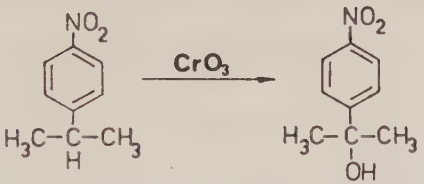
---

77) Deutsches Arzneibuch, 8.Ausgabe 1978, S.99

78) W.AWE und F.DEMELIUS, Pharm. Zentralhalle Dtschl. 90, 73 (1951)

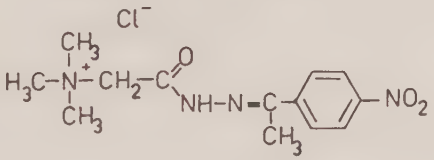
79) Europäisches Arzneibuch Bd.II, S.87 (1974)

5.1.3. 2-(4-NITROPHENYL)-PROPAN-2-OL



50 **47**

Die Darstellung des tertiären Alkohols **47** erfolgte, da eine Reaktion nach Grignard wegen der angreifbaren Nitrogruppe[80] nicht erfolgreich war, durch Oxidation von 4-Nitrocumol (**50**) mit Chromsäure in Eisessig[81]. Dabei konnte das als Artefakt entstandene 4-Nitroacetophenon (**49**) mit GIRARD-Reagens T[82] als wasserlösliches Hydrazon quantitativ entfernt werden und **47** als gelbes Öl[81] rein extrahiert werden.



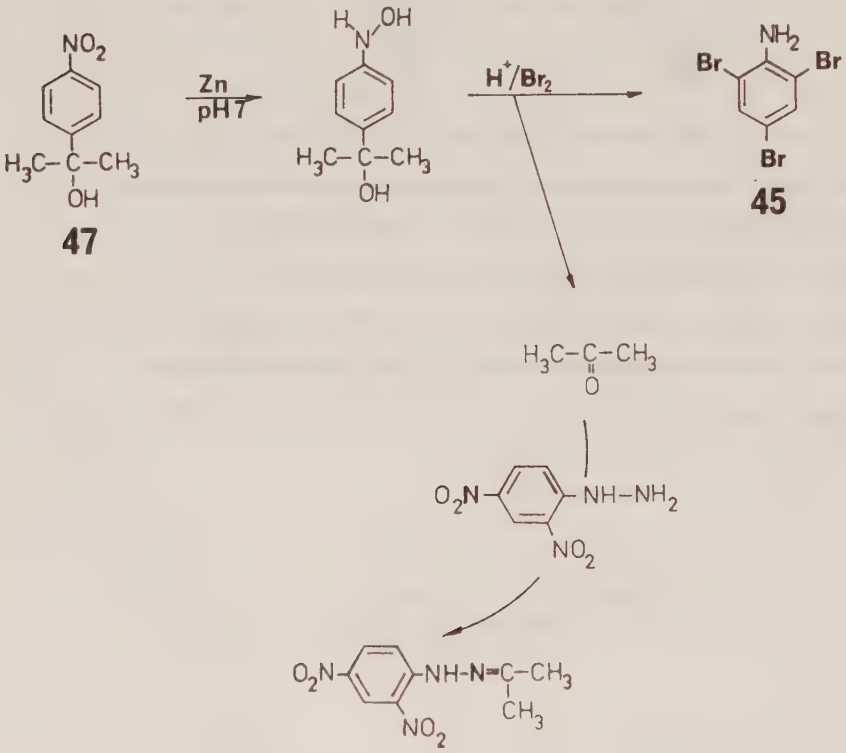
---

80) M.S.KHARASCH und O.REINMUTH, Grignard Reactions of Nonmetallic Substances, S.1237, Prentice Hall Inc., New York 1954

81) H.KWART und P.S.FRANCIS, J. Am. Chem. Soc. 77, 4907 (1955)

82) A.GIRARD und G.SANDULESCO, Helv. Chim. Acta 19, 1095 (1936)

Nach Zinkstaub-Reduktion wurde auch das zum Hydroxylamin reduzierte **47** der Bromierung unterzogen, wobei in diesem Falle Tribromanilin (**45**) in 64-prozentiger Ausbeute anfiel.



Das zu erwartende Produkt aus der Abspaltung der p-ständigen Seitenkette, Aceton, konnte als Dinitrophenylhydrazon eindeutig nachgewiesen werden.

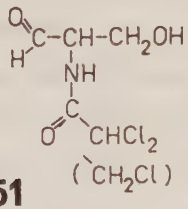
Da bei Einsatz von Ethanol als Lösungsmittel auch hier mit

Oxidation zu Acetaldehyd zu rechnen war und dieser ebenfalls ein schwerlösliches Hydrazon bildet, wurde Acetonitril als geeignetes Medium eingesetzt, bei dem die Reaktion das gleiche Ergebnis brachte wie mit Ethanol.
Durch Destillation im Anschluß an die Bromierung konnte das entstandene Aceton übergetrieben werden und nach Zerstörung von Bromspuren als Dinitrophenylhydrazon gefällt werden. Dabei betrug die gefundene Acetonmenge 53% der bei vollständiger Abspaltung möglichen Menge.
Gleichbehandelte Blindproben mit nicht zum Hydroxylamin reduziertem **47** bzw. nicht bromiertem Hydroxylamin ergaben keinerlei Ausfällung von Aceton-Dinitrophenylhydrazon.

5.2. Untersuchung von Chloramphenicol

Die aromatische Nitrogruppe des Chloramphenicols wird - wie die vorstehenden Untersuchungen ergaben - sowohl unter Ph.Eur.-Bedingungen (vgl. 1.3.1.) als auch nach der von AWE und STOHLMANN[5)] vorgeschlagenen Zinkstaub-Reduktion fast quantitativ zum Hydroxylamin reduziert.
Eine anschließende Umsetzung mit Salzsäure und Brom führte deshalb - analog den zuvor beschriebenen Modellversuchen - zum Ausfallen von Tribromanilin (**45**), dessen Ausbeute in diesem Fall bei fast 80% lag.
Erwartungsgemäß gelang es indessen nicht, den theoretisch als Spaltprodukt zu erwartenden, in der Literatur nicht beschriebenen und sicher sehr unbeständigen Aldehyd **51**

nachzuweisen. Darüber hinaus mußte auch primär mit einem Gemisch von Produkten verschiedenen Chlorierungsgrades gerechnet werden.



51

Damit hatten die Untersuchungen mit Chloramphenicol - insbesondere aber die systematisch eingesetzten Modellsubstanzen **6**, **46** und **47**-klar die von AWE und STOHLMANN[5)] postulierte Aminstufe der entsprechenden Nitroverbindung nach Reduktion widerlegt.

Der von uns vorgeschlagene Reaktionsverlauf über die BAMBERGER-Umlagerung aromatischer Hydroxylamine kann deshalb mit dem auf S.104 angegebenen Reaktionsmechanismus als sehr wahrscheinlich angenommen werden.

6. Zusammenfassung

Die Identitätsreaktion A des Europäischen Arzneibuchs (Ph.Eur.) für Chloramphenicol wurde in ihrem Mechanismus aufgeklärt und verläuft in drei Stufen (Abb. 14):

1. Die Reduktion der aromatischen Nitrogruppe zum Hydroxylamin mittels der Zinkstaub-Methode,
2. Umsetzung des Hydroxylamins mit Benzoylchlorid / Natriumacetat zur Benzhydroxamsäure,
3. Bildung des rotvioletten Hydroxamsäure-Eisen-Komplexes.

Zu 1.:

Aufgrund von Modellversuchen wurde festgestellt, daß die Zinkstaub/Calciumchlorid-Methode in der Hauptsache zu Hydroxylamin-Derivaten führt aber gleichzeitig auch in fortschreitendem Maße reduktiv enthalogenierend wirkt. Dies gilt auch für Chloramphenicol (**20**), wie die als Nebenprodukte auftretenden Azoxyverbindungen **22a** und **22b** zeigen, die aus dem Hydroxylamin **21** und dem entsprechenden Nitroso-Derivat entstanden sind.

Zu 2.:

Das Hydroxylamin des Chloramphenicols wird durch Benzoylchlorid in die entsprechende Benzhydroxamsäure **40** überführt, wobei es durch geeignete Extraktionsverfahren erstmalig gelang, **40** zu isolieren und zu charakterisieren.

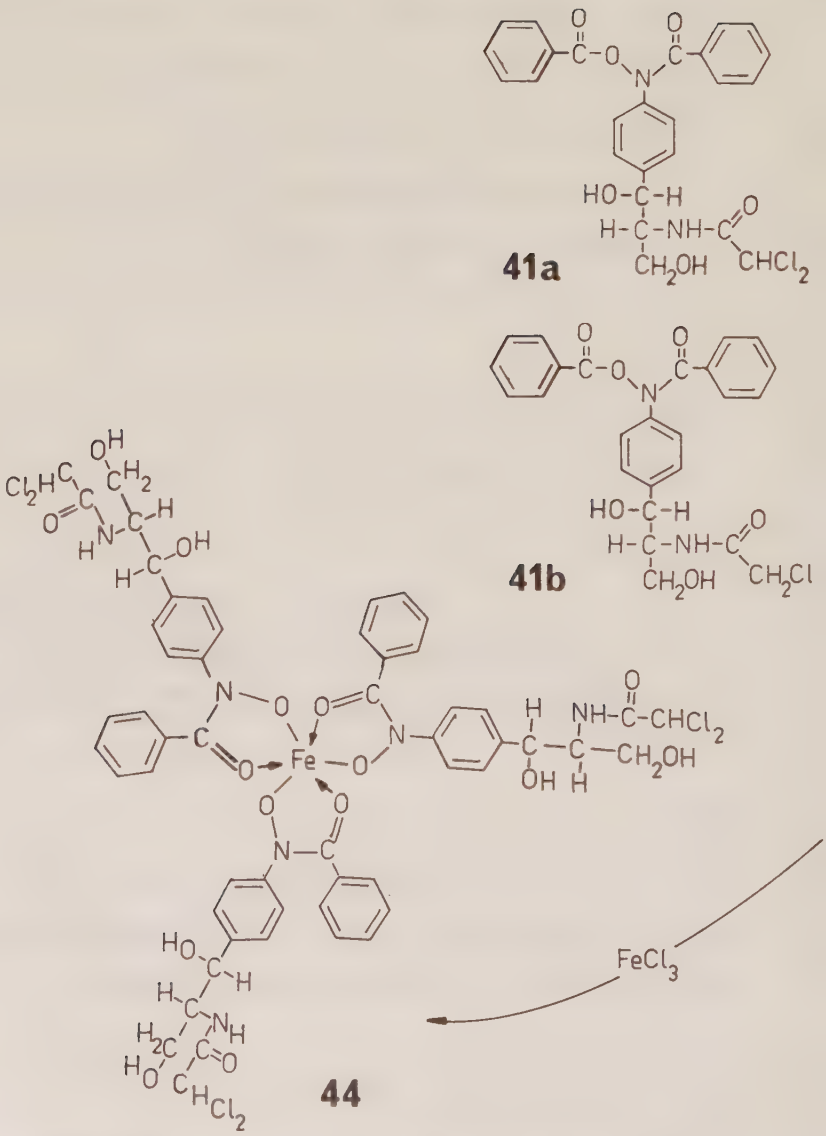
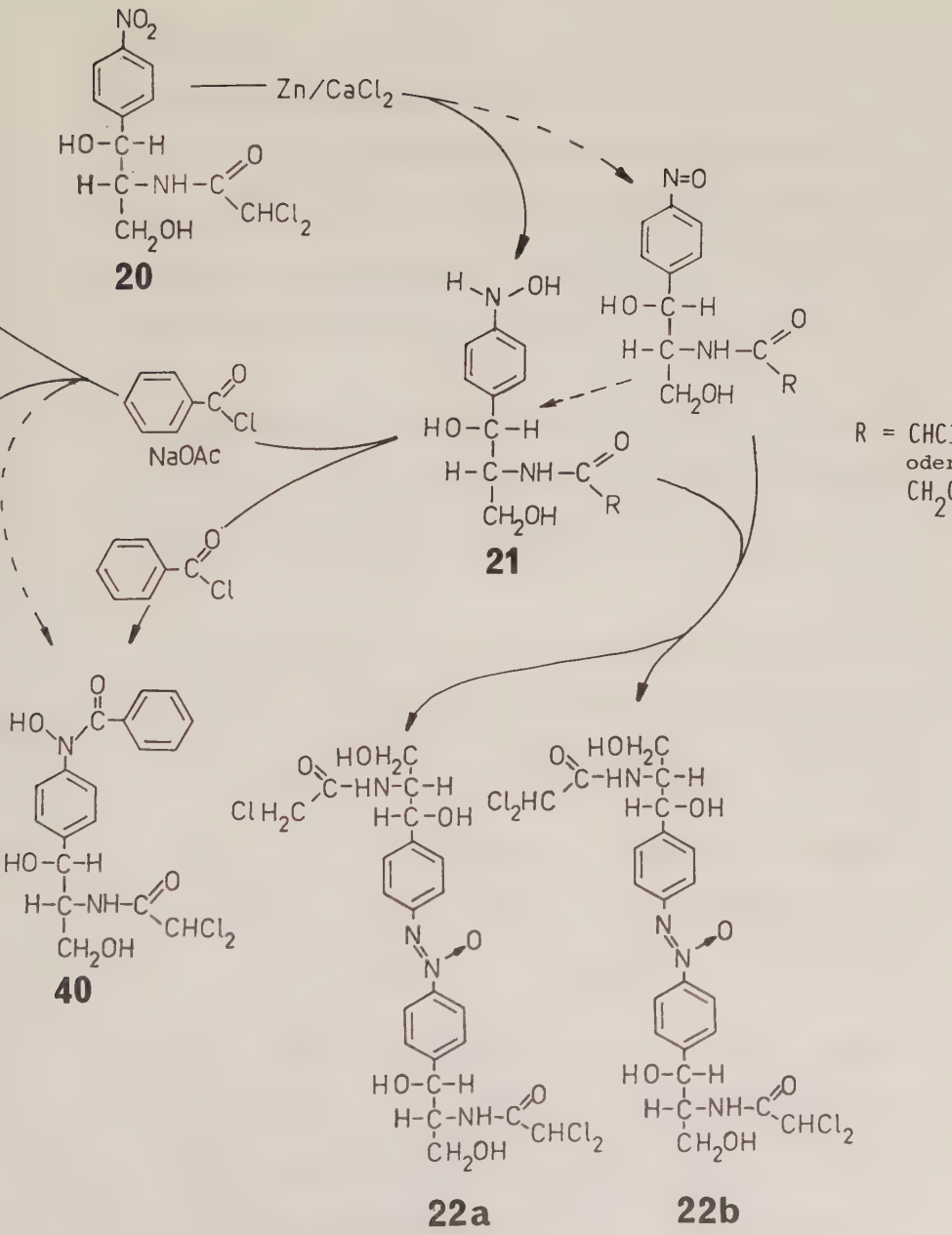


Abb. 14: Schematische Darstellung der aus Chloramphenicol bei der Identitätsreaktion A nach Ph.Eur. entstehenden Verbindungen


NO2
Zn/CaCl2
HO-C-H
H-C-NH-C
CHCl2
CH2OH
20
N=O
H N OH
HO-C-H
H-C-NH-C
R
CH2OH
21
NaOAc
Cl
O
R = CHCl
oder
CH2
HO
N
HO-C-H
H-C-NH-C
CHCl2
CH2OH
40
HOH2C
C-HN-C-H
ClH2C
H-C-OH
Cl2HC
N
O
22a
22b

Als Nebenprodukte bei der Benzoylierung nach Natriumacetat-Zusatz tritt ein 1:1-Gemisch zweier verschieden chlorsubstituierter O-Benzoyl-Benzhydroxamsäuren **41a** und **41b** auf, die der identitätsanzeigenden Prüflösung beträchtliche Mengen an Hydroxamsäure entziehen.
Ohne Acetat-Zusatz bleibt die Nebenreaktion aus, und die Lösung nimmt durch freiwerdende Salzsäure einen pH von 3 an.

Zu 3.:
Ein Zusatz von Eisen(III)-chlorid-Lösung zum benzoylierten Hydroxylamin bewirkt die Entstehung der identitätsanzeigenden rotvioletten Färbung durch Bildung eines Hydroxamsäure-Eisen(III)-Chelats **44**, das isoliert und eindeutig bestimmt wurde.
Zur Ausbildung der geforderten rotvioletten Farbe ist - wie UV-spektroskopische Untersuchungen ergaben - ein pH zwischen 1 und 5 nötig, der durch Verzicht auf den vorgeschriebenen Natriumacetat-Zusatz erreicht werden kann.

Die Identitätsprüfung auf *Chloramphenicolum Ph.Eur.* wurde optimiert und kann nunmehr in vereinfachter und verkürzter Form bei erhöhter Empfindlichkeit durchgeführt werden.
Eine abgewandelte Vorschrift ist angegeben.

Es konnte weiterhin eindeutig nachgewiesen werden, daß das von AWE und STOHLMANN[5)] nach Zinkstaub-Reduktion von Chloramphenicol und anschließender Säure- und Bromzugabe beobachtete Ausfallen von 2,4,6-Tribromanilin (**45**) nicht - wie von diesen postuliert - aus der Aminstufe heraus er-

folgt.

Vielmehr entsteht ausschließlich aus der Hydroxylaminstufe auf Zusatz von Säure und Brom in einer BAMBERGER-Umlagerung - unter Addition von Bromid und Fragmentierung der p-ständigen Seitenkette - primär das 4-Bromanilin, woraus durch elektrophile Substitution Tribromanilin (**45**) gebildet wird.

Experimenteller Teil

Den Technischen und Wissenschaftlichen Mitarbeitern des Instituts für Pharmazeutische Chemie danke ich für die Anfertigung von Spektren und Analysen.

II. Experimenteller Teil

A) Allgemeine Angaben

1. Schmelzpunkte (Schmp.)

a) (M) = Schmelzpunktsbestimmungsapparatur METTLER Fp 5/51; Aufheizgeschwindigkeit 3°C/min.

b) (L) = Linström-Apparatur

Alle Angaben in °C ohne Korrektur.

2. Elementaranalysen

Institut für Pharmazeutische Chemie der Universität Düsseldorf und
Mikroanalytisches Laboratorium Ilse BEETZ, Kronach

3. IR-Spektren

PERKIN-ELMER IR-Spektrophotometer 177,
- KBr-Preßlinge oder
- gelöst in $CHCl_3$ gegen reines Lösungsmittel
- Angaben in $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] .

4. NMR-Spektren

a) 60-MHz-^{1}H-NMR-Spektren: HITACHI/PERKIN-ELMER R-24 B
b) 80-MHz-^{1}H-NMR-Spektren: VARIAN CFT 20
c) 20-MHz-^{13}C-NMR-Spektren: VARIAN CFT 20

Angaben der chemischen Verschiebung in ppm (δ - Skala) gegenüber TMS.
Kopplungskonstanten werden stets als Beträge angegeben: J = |Hz|

5. UV-Spektren

UV-Spektralphotometer PERKIN-ELMER 550

6. Massenspektren

FINNIGAN 3500; Ionisierungsenergie 70 eV
Angaben in m/e (rel. Intens./%)

7. Chromatographie

a) Dünnschichtchromatographie (DC)

- DC-Alufolien, Kieselgel 60 F_{254} (MERCK 5554)
- Laufstrecken 10 bzw. 15 cm
- bandförmige Auftragung, Kammersättigung
- Fließmittel (FM), (ml/ml):
  - I. Chloroform / Methanol (80/20)
  - II. Aceton / Ethylacetat (10/90)
  - III. Methylenchlorid / Ether (90/10)
  - IV. Petrolether 60°/80° / Chloroform (50/50)
  - V. Ether / Aceton (50/50)
  - VI. Ether / Ethanol (95/15)
  - VII. Chloroform (100)
- Detektion:
  - I. UV-Löschung bei 254 nm
  - II. Hydroxylamine: TTC-Lösung (1% in N-NaOH)
  - III. Hydroxamsäuren: Eisen(III)-chlorid-Lösung (10,5 %)
  - IV. Primäre aromat. Amine: Ehrlichs Reagenz
  - V. Borchelate: Diphenylcarbazon (DPC), 1% in Ethanol

b) Gaschromatographie (GC)

PERKIN-ELMER F 22, Trägergas N_2, FID, gepackte Stahlsäule, 5% Silicongummi SE 30 auf Chromosorb W/AW DMCS 80-100 mesh, 1,80 m
T_1 = Injektortemperatur
T_2 = Säulentemperatur (°C)

c) HPL-Chromatographie (HPLC)

HEWLETT-PACKARD 1084 B,
Säule: Zorbax Sil, Flow: 1,2 ml/min., VW 254:430 nm

Mobile Phase (MP): I. Methylenchlorid 93
Isopropanol 7

II. Methylenchlorid 90
Ether 10

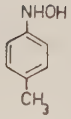
B) Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

Ar, ar	Aromat, -isch
br	breit (Spektrenbanden)
C_q	quartäres C-Atom
C_t	tertiäres C-Atom
C_s	sekundäres C-Atom
CI/MS	Massenspektrometrie mit chem. Ionisation
d	Dublett
dd	Doppeldublett
DC, dc	Dünnschichtchromato- -gramm, -graphie, - graphisch
DPC	Diphenylcarbazon
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure (Dinatriumsalz)
EI/MS	Massenspektrometrie mit Elektronenstoß-Ionisation
FM	Fließmittel
GC, gc	Gaschromato- -gramm, -graphie, -graphisch
HPLC	High Pressure Liquid Chromatography
^3J	vicinale Kopplungskonstante
LM	Lösungsmittel
m	Multiplett
M^+	Molekülion
MP	Mobile Phase
ND	noise decoupled
off res.	off resonance
Ph.Eur.	Pharmacopoea Europaea
q	Quartett
R_f	Laufstreckenquotient (DC)
RT	Raumtemperatur
s	Singulett

SC, sc	Säulenchromato- -gramm, -graphie, -graphisch
Schmp.	Schmelzpunkt
t	Triplett
t_R	Retentionszeit
TPDBO	Tetraphenyldiboroxid
TTC	Triphenyltetrazoliumchlorid
VW	veränderliche Wellenlänge (HPLC)
Z	Zersetzung

C) Beschreibung der Versuche und Substanzen

1. N-(*p*-Tolyl)-hydroxylamin (**2**)



Darstellung nach Lit.[17], 1. Methode, durch Zinkstaubreduktion von **1** im Zweiphasensystem Ether / Ammoniumchlorid-Lösung.

Ausbeute: 62%

Schmp. (L): 93°C Lit.[17]: 93-94°C

DC: R_f = 0,65 (FM I)

IR-Spektrum: 3280 (br), 2920, 1610, 1515, 1465, 1390, 1375, 1225, 1180, 1120, 1025, 1010, 940, 915, 840, 825, 810, 740, 705.

^{1}H-NMR-Spektrum ($CDCl_3$):

6,68 - 7,22	m, 6H, 2H austauschbar,	4 ar. H, -NH-O- und -N-OH
2,28	s, 3H,	$-CH_3$

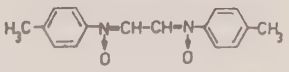
Massenspektrum: 123 (82, M^+), 107 (100), 92 (19), 79 (32), 77 (35), 66 (10), 64 (8), 53 (13), 40 (6).

C_7H_9NO (123,2)

Ber.	C	68,27	H	7,37	N 11,37
Gef.	C	68,38	H	7,38	N 11,43

2. Glyoxaldiimin-N,N'-di-(*p*-tolyl)-dioxid (**3**)

a) Darstellung der authentischen Substanz aus **2** und Formaldehyd nach Lit.[18].



Ausbeute: 32%

Schmp. (L): 207°C (aus 70 proz. Ethanol), Lit.[18]: 208°C

DC: R_f = 0,79 (FM I)

IR-Spektrum: 3140, 1600, 1505, 1485, 1330, 1295, 1180, 1090, 1020, 820, 750, 705, 645, 625.

^{1}H-NMR-Spektrum ($CDCl_3$):

8,65	s, 2H, =CH-CH=
7,3/7,78	2 AA'BB', erscheinen als 2 AB, 8 ar. H, J_{AB}= 9 Hz
2,4	s, 6H, $-CH_3$

Massenspektrum: 268 (8, M^+), 242 (3), 235 (5), 221 (10), 101 (26), 131 (8), 118 (100), 108 (83), 91 (17), 77 (8).

$C_{16}H_{16}N_2O_2$ (268,3)

Ber.	C	71,62	H	6,01	N 10,44
Gef.	C	71,66	H	6,11	N 10,33

b) Isolierung aus dem Reduktionsansatz von **1** analog der Vorschrift für "Chloramphenicolum" der Ph.Eur. nach Formaldehyd-Zugabe:
0,6 g (4,6 mmol) 4-Nitrotoluol (**1**) werden in 200 ml 96 proz. Ethanol gelöst und nach Zugabe von 75 ml Wasser und 3,5 g $CaCl_2 \cdot 6H_2O$ mit 7 g Zinkstaub versetzt. Nach 10-minütigem Erhitzen im siedenden Wasserbad wird der Zinkschlamm abgesaugt und dem warmen Filtrat 1 ml 35 proz. Formaldehyd-Lösung hinzugefügt. Nach halbstündigem magnetischem Rühren fällt ein gelb-orangefarbenes Produkt aus, das nach weiteren 30 Minuten abgesaugt wird. Durch Umkristallisieren aus 70 proz. Ethanol erhält man eine orangegelbe, in langen filzigen Nadeln kristallisierende Verbindung.
(Sollte nach Absaugen des Zinkschlamms bereits ein Produkt ausfallen, so handelt es sich um p-Azoxytoluol (**4**). In diesem Falle ist nach dessen Abtrennung wie oben angegeben weiter zu verfahren, wobei die Ausbeute von **3** geringer ausfällt).

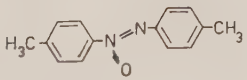
Ausbeute: 0,15 g (24%)

Schmp. (L): 207°C Lit.[18]: 208°C

IR-Spektrum: identisch mit dem der unabhängig dargestellten Verbindung **3**.

3. 4,4'-Dimethyl-azoxybenzol (*p*-Azoxytoluol) (**4**)

a) Darstellung der authentischen Verbindung analog Lit.[19].



Zu einer Suspension von 7,5 g 4-Nitrotoluol (**1**) in 33 ml 30 proz. Natronlauge werden bei 80°C unter Rühren 7,5 g D-Glucose portionsweise so zugegeben, daß die Temperatur beibehalten wird. Die Lösung verfärbt sich dabei zunehmend nach braun. Nach Beendigung der Zugabe (ca. 30 Min.) wird zur Entfernung von nicht umgesetztem Nitrotoluol eine Wasserdampfdestillation durchgeführt. Aus der Destillationsvorlage fällt nach Abkühlen ein gelbes grießartiges Produkt aus, das aus Ethanol in fahlgelben filzigen Nadeln kristallisiert.

Ausbeute: 4,5 g (73%)

Schmp. (M): 69-70°C Lit.[19]: 70°C

DC: R_f = 0,45 (FM IV)

IR-Spektrum: 2920 (br), 1600, 1500, 1465, 1400, 1330, 1315, 1270, 1165, 1110, 1090, 1010, 910, 820, 715, 710, 670.

^{1}H-NMR-Spektrum (DMSO-d_6):

8,15 / 7,40	2 AA'BB', erscheinen als 2 dd, 8 ar. H
2,42	s, 6H, $-CH_3$

Massenspektrum: 226 (19,M^+), 210 (3), 197 (3), 183 (6), 119 (13), 105 (17), 91 (100), 77,78,79 (17,17,17), 75 (30), 62 (8), 56 (9).

$C_{14}H_{14}N_2O$ (226,3)

Ber.	C	74,31	H	6,23	N 12,38
Gef.	C	74,01	H	6,27	N 12,58

b) Isolierung aus dem Reduktionsansatz von **1** analog der Vorschrift für "Chloramphenicolum" der Ph.Eur.: Doppelter Ansatz wie bei der Isolierung von **3**. Nach Abfiltrieren des Zinkschlamms kristallisiert beim Erkalten der Lösung ein hellgelbes Produkt in langen Nadeln. Die Verbindung ist ohne weitere Aufarbeitung analysenrein.

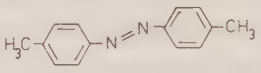
Ausbeute: 0,45 g (85%)

Schmp. (M): 69°C Lit.[19]: 70°C

IR-Spektrum: identisch mit dem der unabhängig dargestellten Verbindung **4** .

4. 4,4'-Dimethyl-azobenzol (*p*-Azotoluol) (**5**)

Darstellung nach Lit.[20]:



10 g (0,09 Mol) p-Toluidin werden in 25 ml Eisessig gelöst, in eine Lösung von 20 g Na-perborat ($NaBO_3 \cdot 4H_2O$) in 400 ml Eisessig eingerührt und auf 40-50°C erwärmt. Nach einer Stunde wird auf RT abgekühlt. Es bildet sich ein braunschwarzer Brei, der allmählich sedimentiert. Nach Absaugen und mehrmaligem Auswaschen mit verd. Essigsäure und Wasser bleibt ein gelb-orangefarbenes, amorphes Produkt zurück.

Nach einmaligem Umkristallisieren aus 70 proz. Ethanol bilden sich lange, orangefarbene Nadeln.

Ausbeute: 7,2 g (76%)

Schmp. (L): 143°C Lit.[20]: 143-144°C

DC: R_f = 0,6 (FM IV)

IR-Spektrum: 3020, 2920, 1600, 1580, 1500, 1410, 1300, 1295, 1210, 1150, 1110, 1035, 1010, 850, 840, 820, 715.

^{1}H-NMR-Spektrum ($CDCl_3$):

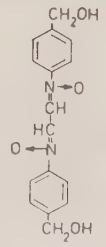
7,81 / 7,28	2 AA'BB', erscheinen als 2 AB, 8 ar. H, J_{AB}= 8 Hz
2,41	s, 6H, $-CH_3$

Massenspektrum: 210 (20, M^+), 165 (3), 119 (18), 91 (100), 65 (28), 63 (4), 52 (4), 40 (13).

$C_{14}H_{14}N_2$ (210,3)

Ber.	C	79,95	H	6,71	N 13,32
Gef.	C	79,92	H	6,82	N 13,38

5. Glyoxaldiimin-N,N'-bis-(4-hydroxymethylphenyl)-dioxid (**8**)



Isolierung aus dem Reduktionsansatz von 4-Nitrobenzylalkohol (**6**) analog der Vorschrift für "Chloramphenicolum" der Ph.Eur. nach Formaldehyd-Zusatz:
1 g (6,3 mmol) **6** wird in 100 ml 96 proz. Ethanol gelöst. Nach Zugabe von 200 ml Wasser, 5 g $CaCl_2 \cdot 6H_2O$ und 10 g Zinkstaub wird die Lösung 10 Min. im siedenden Wasserbad erhitzt. Nach Absaugen des Zinkschlamms werden zu der warmen Lösung 1,5 ml 35 proz. Formaldehyd-Lösung zugesetzt und magnetisch gerührt. Nach ca. 1 Std. tritt Ausfällung eines gelb-orangefarbenen Produkts ein, das nach Abfiltrieren und Umkristallisieren aus 70 proz. Ethanol orangefarbene, verfilzte Nadeln liefert.

Ausbeute: 0,4 g (44%)

Schmp. (L): 196°C

DC: R_f = 0,46 (FM I)

IR-Spektrum: 3400, 1600, 1490, 1415, 1325, 1300, 1290, 1200, 1170, 1080, 1060, 1010, 990, 810.

^{1}H-NMR-Spektrum (DMSO-d_6):

8,7	s, 2H, =CH-CH=
7,95 / 7,5	2 AA'BB' erscheinen als 2 AB, 8 ar. H J_{AB}= 9 Hz
5,4	t, 2H, austauschbar, -OH, ^3J = 5 Hz
4,65	d, 4H, $-CH_2-$, ^3J = 5 Hz

Massenspektrum: 300 (1, M^+), 284 (1), 267 (3), 237 (11), 177 (3), 163 (3), 147 (6), 137 (12), 135 (12), 134 (100), 132 (14), 124-120 (12), 107 (56), 89 (77), 77 (98), 65 (23), 51(46), 44 (75).

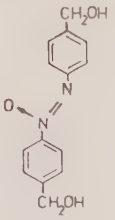
$C_{16}H_{16}N_2O_4$ (300,3)

Ber.	C	63,99	H	5,37	N 9,32
Gef.	C	63,99	H	5,48	N 9,20

6. 4,4'-Dihydroxymethyl-azoxybenzol (*p*-Azoxybenzylalkohol) (**9**)

Isolierung aus dem Reduktionsansatz von **6**

analog der Vorschrift für "Chloramphenicolum" der Ph.Eur.:
Doppelter Ansatz wie bei Isolierung von **8**. Nach Abfiltrieren des Zinkschlamms fällt beim Erkalten der Lösung ein in feinen Nädelchen kristallisierendes Produkt aus. Umkristallisation aus 50 proz. Ethanol.



Ausbeute: 1,1 g (65%)

DC: R_f = 0,73 (FM I)

Schmp. (L): 167°C Lit.[83]: 167°C

IR-Spektrum: 3300 (br), 1600, 1500, 1470, 1420, 1405, 1330, 1285, 1200, 1160, 1040, 1020, 910, 830.

^{1}H-NMR-Spektrum (DMSO-d_6):

8,2 / 7,55	2m, 8 ar. H
5,4	2t überlagert, erscheinen als q, 2H austauschbar, -OH, ^3J = 6 Hz
4,6	2d überlagert, 4H, -CH_2-O-, ^3J = 6 Hz

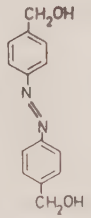
Massenspektrum: 258 (5, M^+), 242 (3), 135 (23), 107 (100), 89 (73), 77 (60), 66 (23), 51 (20).

$C_{14}H_{14}N_2O_3$ (258,3)

Ber.	C	65,10	H	5,46	N 10,84
Gef.	C	64,97	H	5,55	N 10,74

7. 4,4'-Dihydroxymethyl-azobenzol (*p*-Azobenzylalkohol) (**10**)

Darstellung analog Lit.[23].



3,06 g (0,02 Mol) **6**, gelöst in 25 ml wasserfreiem DMSO, werden zu einer auf 85°C temperierten Lösung von 4,5 g (0,12 Mol) $NaBH_4$ in 25 ml wasserfreiem DMSO auf einmal zugegeben. Die Suspension wird in einem Zweihalskolben mit Trockenrohr und Thermometer magnetisch gerührt. Schon nach 15 Min. tritt Farbvertiefung der anfangs hellgelben Lösung nach dunkelrot ein. Nach ca. 2 Std. wird der klar gelöste Kol-

---

83) J.B.SHOESMITH und W.E.TAYLOR, J. Chem. Soc. 129, 2834 (1926)

beninhalt in 200 ml Wasser gegossen. Es tritt sofort Ausfällung eines feinen gelben Produkts auf, das nach Umkristallisieren aus 70 proz. Ethanol gelb-orangefarbene Kristallblättchen liefert.

Ausbeute: 2,0 g (82%)

Schmp. (M): 228-229°C Lit.[31]: 229°C

DC: R_f = 0,65 (FM I)

IR-Spektrum: 3320 (br), 2920, 1600, 1580, 1500, 1450, 1420, 1350, 1305, 1290, 1210, 1155, 1110, 1030, 1010, 955, 885, 855, 720.

^{1}H-NMR-Spektrum (DMSO-d_6):

7,93 / 7,55	2 AA'BB' erscheinen als 2 AB, 8 ar. H, J_{AB} = 8 Hz
5,4	t, 2H austauschbar, -OH, ^3J = 6 Hz
4,65	d, 4H, $-CH_2-O-$, ^3J = 6 Hz

Massenspektrum: 242 (15, M^+), 165 (2), 152 (2), 135 (24), 107 (100), 89 (63), 77 (50), 65 (6), 63 (8), 52 (17).

$C_{14}H_{14}N_2O_2$ (242,3)

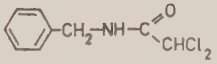
Ber.	C	69,40	H	5,82	N 11,56
Gef.	C	69,54	H	5,93	N 11,59

Allgemeine Darstellungsmethode für die dichlor- bzw. chloracetylierten Verbindungen **11**, **12**, **13** bzw. **14**, **16** und **18** analog Lit.[25]

0,15 Mol des betreffenden Amins oder dessen Hydrochlorids werden in 75 ml 20 proz. Natronlauge gelöst und in einem Dreihalskolben mit mechanischem Rührer, Thermometer und Tropftrichter, auf -5 bis -10°C gekühlt. Dazu wird eine Lösung von 0,4 Mol Dichloracetylchlorid (≙ 58 g) bzw. Chloracetylchlorid (≙ 45 g) in 75 ml Ether so langsam zu-

getropft, daß die Temperatur nie über -5°C steigt. Nach Zugabe von ca. der Hälfte des Säurechlorids entsteht ein sich zunehmend verdickender, weißer Brei, der 15 Min. nach vollständigem Zutropfen auf Eis gegossen wird. Durch Neutralisieren mit Salzsäure und Stehen über Nacht setzt sich ein weißes, amorphes Produkt ab, das nach Absaugen aus verdünntem Ethanol umkristallisiert wird.

a) N-Benzyl-dichloracetamid (**11**)



Ausbeute: 65 g (74%)

Schmp. (M): 96-97°C Lit.[25]: 96,2°C

DC: R_f = 0,66 (FM II) (s. Abb. 1)

IR-Spektrum: 3270, 3060, 3020, 3000, 1675 (br), 1550, 1450, 1365, 1210, 1060, 1030, 815, 775, 745, 700.

^{1}H-NMR-Spektrum (DMSO-d_6):

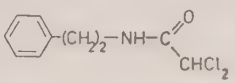
8,7 - 9,4	breites Signal, 1H austauschbar, -N<u>H</u>-CO-
7,3	s, 5 ar. <u>H</u>
6,52	s, 1H, -C<u>H</u>Cl_2
4,32	d, 2H, -C<u>H</u>$_2$-, ^3J = 6 Hz

Massenspektrum: 217/219 (3/2, M^+), 182/184 (45/15), 146 (30), 103 (16), 104 (10), 106 (10), 107 (9), 91 (100), 77 (17), 64 (20).

$C_9H_9Cl_2NO$ (218,1)

Ber.	C	49,57	H	4,16	N 6,42
Gef.	C	49,58	H	4,17	N 6,32

b) N-Phenethyl-dichloracetamid (**12**)



Ausbeute: 83 g (89%)

DC: R_f = 0,6 (FM V)

Schmp. (M): 79-80°C Lit.[84]: 78°C

IR-Spektrum: 3240, 3080, 2950, 1670, 1580, 1490, 1450, 1440, 1345, 1220, 1200, 1085, 1040, 810, 770, 705, 660.

^{1}H-NMR-Spektrum (DMSO-d_6):

8,4 - 8,8	breites Signal, 1H austauschbar, -NH-CO-
7,25	s, 5 ar. H
6,4	s, 1H, $-CHCl_2$
3,35	m, 2H, $-CH_2-N-CO-$
2,8	m, 2H, $Ar-CH_2-$

Massenspektrum: 231/233 (2/1, M^+), 148 (2), 140/142 (6/4), 104/106 (100/22), 91 (26), 83/85 (4/3), 76/77/78/79 (4/8/5/4), 65 (10), 62 (3), 51 (5).

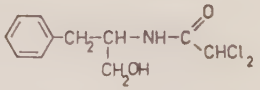
$C_{10}H_{11}Cl_2NO$ (232,1)

Ber.	C	51,75	H	4,78	N 6,03
Gef.	C	51,93	H	4,76	N 5,75

c) N-(1-Hydroxymethyl-2-phenylethyl)-dichloracetamid (**13**)

Ausbeute: 92 g (88%)

Schmp. (M): 106°C Lit.[85]: 107,5°C



DC: R_f = 0,62 (FM II)

IR-Spektrum: 3490, 3250, 3100, 2920, 1680, 1650, 1580, 1490, 1450, 1560, 1540, 1260, 1225, 1100, 1080, 1050, 960, 810, 770, 750, 700, 665.

---

84) J.v.BRAUN, F.JONES und W.MÜNCH, Justus Liebigs Ann. Chem. 453, 143 (1927)

85) A.DORNOW und G.WINTER, Chem. Ber. 84, 307 (1951)

^{1}H-NMR-Spektrum (DMSO-d_6):

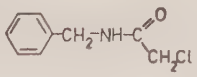
7,35	d, 1H, austauschbar, -NH-CO-, ^3J = 9 Hz
7,22	s, 5 ar. H
6,39	s, 1H, -CHCl$_2$
4,90	t, 1H, austauschbar, -OH, ^3J = 6,5 Hz
3,6 - 4,0	m, 1H, -CH-N-
3,40	t, 2H, -CH$_2$-O-, ^3J = 6,5 Hz
2,55 - 3,0	m, 2H, Ar-CH$_2$-

Massenspektrum: 262/264 (2/1, M^+), 230/232 (5/3), 170/172 (25/16), 152/154 (11/8), 134 (75), 120 (18), 105 (10), 103 (10), 91 (100), 83 (18), 77 (15), 65 (33), 60 (55).

$C_{11}H_{13}Cl_2NO_2$ (262,1)

Ber.	C	50,40	H	5,00	N 5,34
Gef.	C	50,20	H	4,93	N 5,30

d) N-Benzyl-chloracetamid (**14**)



Ausbeute: 55 g (75%)

Schmp. (M): 93-94°C Lit.[86]: 93-93,6°C

DC: R_f = 0,36 (FM II)

IR-Spektrum: 3280, 3060, 1650 (br), 1550, 1450, 1430, 1360, 1330, 1240, 1060, 1030, 1000, 785, 750, 700.

^{1}H-NMR-Spektrum (DMSO-d_6):

8,5-8,8	breites Signal, 1H, austauschbar, -NH-CO-
7,28	s, 5 ar. H
4,30	d, 2H, Ar-CH$_2$-, ^3J = 6,5 Hz
4,11	s, 2H, -CH$_2$Cl

---

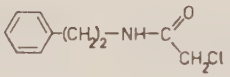
86) C.A.BUEHLER und C.A.MACKENZIE, J. Am. Chem. Soc. 59, 421 (1937)

Massenspektrum: 183/185 (25/10, M^+), 148 (100), 107 (63), 105 (35), 104 (13), 91 (75), 79 (25), 77 (25), 65 (23), 51 (21).

$C_9H_{10}ClNO$ (183,6)

Ber.	C	58,87	H	5,49	N 7,63
Gef.	C	59,32	H	5,67	N 7,63

e) N-Phenethyl-chloracetamid (**16**)



Ausbeute: 62 g (79%)

Schmp. (M): 65-66°C Lit.[87] : 67°C

DC: R_f = 0,52 (FM II)

IR-Spektrum: 3340, 3030, 1645 (br), 1545, 1490, 1450, 1400, 1300, 1290, 1270, 1260, 1190, 1090, 1020, 925, 905, 780, 755, 700.

^{1}H-NMR-Spektrum (DMSO-d_6):

8,05 - 8,35	breites Signal, 1H, austauschbar, -NH-CO-
7,24	m, 5 ar. H
4,03	s, 2H, $-CH_2Cl$
3,1 - 3,5	m, 2H, $-CH_2-N-$
2,55-2,85	m, 2H, $Ar-CH_2-$

Massenspektrum: 197/199 (6/2, M^+), 162 (1), 105 (13), 104 (100), 91 (23), 78 (6), 77 (10), 65 (12), 63 (4), 51 (7).

$C_{10}H_{12}ClNO$ (197,7)

Ber.	C	60,75	H	6,12	N 7,08
Gef.	C	60,43	H	5,99	N 7,13

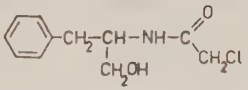
---

87) J.v.BRAUN und W.MÜNCH, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 60, 351 (1927)

f) N-(1-Hydroxymethyl-2-phenylethyl)-chloracetamid (**18**)

Ausbeute: 67 g (74%)

Schmp. (M): 95-96°C



DC: R_f = 0,45 (FM II)

IR-Spektrum: 3300 (br), 2970, 1655, 1640, 1560, 1495, 1455, 1300, 1270, 1240, 1110, 1080, 1045, 910, 775, 750, 700.

^{1}H-NMR-Spektrum (DMSO-d_6):

7,95	d, 1H, austauschbar, -NH-CO-, ^3J = 8,5 Hz
7,22	s, 5 ar. H
4,81	t, 1H, austauschbar, -OH, ^3J = 5 Hz
3,99	s, 2H, $-CH_2Cl$
3,5 - 3,9	m, 1H, -CH-N-
3,15 - 3,4	m, 2H, $-CH_2-O-$
2,5 - 3,0	m, 2H, Ar-CH_2-

Massenspektrum:

277/279 (1/1, M^+), 196/198 (6/2), 134/136 (55/36), 120 (36), 103 (7), 91 (60), 77 (21), 65 (19), 60 (100).

$C_{11}H_{14}ClNO_2$ (227,7)

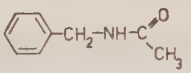
Ber.	C	58,03	H	6,20	N 6,15
Gef.	C	58,19	H	6,25	N 6,06

9. Allgemeine Darstellungsweise für die Acetamide **15** und **17**

Zu 0,1 Mol des betreffenden Amins werden je 10 g Acetanhydrid langsam zugegeben (starke Erwärmung!) und 15 Min. lang magnetisch gerührt. Danach wird der gesamte Ansatz in 50 ml Eiswasser gegossen. Es entsteht meist sofort ein weißer Niederschlag, der abgesaugt und mit wenig Wasser nachgewaschen wird. Sollte kein Niederschlag ausfallen, so wird zweimal mit 100 ml Ethylacetat ausgeschüttelt.

Nach Trocknen über K_2CO_3 erhält man das Produkt beim Abziehen des Lösungsmittels.
Die gut getrocknete Substanz löst sich durch längeres Kochen am Rückfluß in Petrolether 60°/80° und liefert beim Erkalten weiße, filzige Kristallnädelchen bzw. -plättchen.

a) N-Benzyl-acetamid (**15**)



Ausbeute: 6,9 g (46%)

Schmp. (M): 60-61°C Lit.[88] : 61°C

DC: R_f = 0,1 (FM II)

IR-Spektrum: 3300, 3080, 3040, 1645, 1545, 1500, 1455, 1380, 1375, 1285, 1220, 1080, 1035, 755, 745, 700.

^{1}H-NMR-Spektrum (DMSO-d_6):

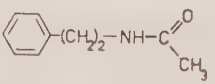
8,2 - 8,6	breites Signal, 1H, schwer austauschbar, -NH-CO-
7,35	s, 5 ar. H
4,3	d, 2H, Ar-CH_2-, ^3J = 7 Hz
1,9	s, 3H, -CH_3

Massenspektrum: 149 (53, M^+), 132 (1), 107 (20), 106 (100), 91 (36), 79 (23), 77 (21), 65 (13), 63 (5), 51 (17), 43 (51).

$C_9H_{11}NO$ (149,2)

Ber.	C	72,45	H	7,43	N 9,39
Gef.	C	72,26	H	7,41	N 9,24

b) N-Phenethyl-acetamid (**17**)



Ausbeute: 9,4 g (58%)

Schmp. (M): 53-54°C Lit.[89] : 51°C

---

88) O.C.DERNER und J.KING, J. Org. Chem. 8, 168 (1943)

89) W.H.CAROTHERS und G.A.JONES, J. Am. Chem. Soc. 47, 3057 (1925)

DC: R_f = 0,16 (FM II)

IR-Spektrum: 3295 (br), 1650, 1550, 1500, 1455, 1430, 1370, 1305, 1280, 1200, 1155, 1105, 1035, 990, 920, 750, 705.

^{1}H-NMR-Spektrum (DMSO-d_6):

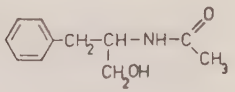
7,8 - 8,2	breites Signal, 1H, schwer austauschbar, -NH-CO-
7,35	s, 5 ar. H
3,1 - 3,5	m, 2H, $-CH_2-N-$
2,55 - 2,9	m, 2H, $Ar-CH_2-$
1,8	s, 2H, $-CH_3$

Massenspektrum: 163 (38, M^+), 149 (2), 119 (2), 104 (100), 91 (29), 77 (9), 72 (26), 65 (18), 51 (8), 43 (53).

$C_{10}H_{13}NO$ (163,2)

Ber.	C	73,59	H	8,03	N 8,58
Gef.	C	73,81	H	8,33	N 8,56

10. N-(1-Hydroxymethyl-2-phenylethyl)-acetamid (**19**)



3,8 g (0,02 Mol) N-(1-Hydroxymethyl-2-phenylethyl)-ammoniumchlorid werden in 10 ml 20 proz. Natronlauge suspendiert bzw. gelöst. Nach Kühlung auf ca. 0°C wird eine Lösung von 1,6 g (0,02 Mol) Acetylchlorid in 5 ml Ether langsam unter Rühren zugetropft. Nach Beendigung wird der Kolbeninhalt auf Eis gegossen und mit Salzsäure neutralisiert. Da kein Ausfallen des Amids erfolgt, wird zweimal mit je 100 ml Ethylacetat ausgeschüttelt. Nach Trocknen der vereinigten Phasen über K_2CO_3 wird das Lösungsmittel abgezogen. Es bleibt ein gelbes, harzartiges Öl zurück, wie es auch in der Lit.[90] beschrieben ist.

90) L.BERLINGUET, Can. J. Chem. 32, 31 (1954)

DC: R_f = 0,2 (FM II)

IR-Spektrum ($CHCl_3$): 3390, 3000, 2930, 1660, 1600, 1495, 1455, 1335, 1225, 1030, 675.

^{1}H-NMR-Spektrum (DMSO-d_6):

7,55 - 7,8	breites Signal, 1H, austauschbar, -NH-CO-
7,25	s, 5 ar. H
4,85	t, 1H, austauschbar, -OH, ^3J = 5 Hz
3,4 - 3,8	m, 1H, -CH-N-
3,08 - 3,34	m, 2H, $-CH_2-O-$
2,3 - 2,8	m, 2H, Ar-CH_2-
1,85	s, 3H, $-CH_3$

Massenspektrum: 193 (1, M^+), 152 (1), 120 (28), 103 (8), 77 (7), 65 (7), 61 (15), 60 (100), 42 (19).

$C_{11}H_{15}NO_2$ (193,3)

Eine Elementaranalyse konnte wegen der harzigen Konsistenz der Verbindung nicht durchgeführt werden.

11. Umsetzung der Dichloracetamide **11**, **12** und **13** mit Zinkstaub / Calciumchlorid analog der Prüfvorschrift für "Chloramphenicolum" nach Ph.Eur.

5 mmol des betreffenden Dichloracetamids werden in 100 ml Ethanol gelöst. Nach Zusatz von 3,5 g $CaCl_2 \cdot 6H_2O$ und (nach dessen Auflösung) 7 g Zinkstaub wird mit Wasser auf 300 ml aufgefüllt. Geringfügig wieder ausfallendes Amid geht bei der anschließenden Wasserbadbehandlung (100°C) wieder in Lösung.
Nach 10 Min. wird der Zinkschlamm abgesaugt. Die nicht umgesetzten Dichloracetamide fallen in der Regel beim Erkalten der Lösung wieder aus, während die monochlorierten bzw. vollständig enthalogenierten Produkte gelöst bleiben

und erst durch Einengen der Lösung bzw. durch zweimaliges Ausschütteln mit je 100 ml Ethylacetat abgetrennt werden können.
Der Verlauf der Umsetzungen kann jeweils dc verfolgt werden; die entstehenden Verbindungen werden, soweit möglich und sinnvoll, wie oben beschrieben isoliert.
Aufarbeitung und Umkristallisation erfolgen wie bei der Darstellung der authentischen Substanzen angegeben.
Schmelzpunkte, IR-, NMR- sowie Massenspektren und Elementaranalysen stimmen mit den unabhängig dargestellten Produkten überein.
Näheres über den Reaktionsverlauf s. 1.2.1., 1.2.2. und 1.2.3. im Theoretischen Teil.

Bei der Zinkstaub-Behandlung von **13** wurde die Trennung von der monochlorsubstituierten Verbindung **18** gc durchgeführt.
Dazu wird der Ansatz nach Abfiltrieren des Zinkschlamms auf zwei Drittel eingeengt und dreimal mit 50 ml CH_2Cl_2 ausgeschüttelt. Die vereinigten Phasen werden dann nach Trocknen über $CaCl_2$ auf 20 ml eingeengt.

Trennbedingungen: T_1 = 250°C
T_2 = 200°C
bei höheren Temperaturen treten Zersetzungsprodukte auf.

Retentionszeiten:
1. **13** : 180 sec.
2. **18** : 144 sec.
3. Durch Extraktion (s.o.) gewonnenes Gemisch: 174 / 138 sec.
4. Mischinjektion des Gemischs mit **13** und **18** : 178 / 140 sec. (jeweils nur ein Peak).

Massenspektrometrie (GC/MS):
Beide Verbindungen sind nach gc Trennung abbaugleich mit den authentischen Proben.

12. Umsetzung der Dichloracetamide **11**, **12** und **13** mit Zinkstaub / Calciumchlorid unter energischeren Bedingungen

Der gleiche Ansatz wie unter 11. wird 30 Min. unter magnetischem Rühren zum Sieden erhitzt.
Danach wird der Zinkschlamm abfiltriert und die Lösung wi zuvor beschrieben aufgearbeitet.

13. Umsetzung der Dichloracetamide **11**, **12** und **13** mit Zinkstaub / Calciumchlorid bei niedrigerem pH

Gleicher Ansatz wie unter 11. wird durch Zusatz von 2 ml Eisessig auf pH 4 eingestellt. Anschließend wird 10 Min. im siedenden Wasserbad erhitzt.

Danach wird der Zinkschlamm abfiltriert und die Lösung wie zuvor beschrieben aufgearbeitet.

14. Isolierung des Gemischs **22** aus dem Prüfansatz für Chloramphenicol (**20**) nach Ph.Eur.

Zu einer Lösung von 1 g **20** in 50 ml 96 proz. Ethanol werden 350 ml Wasser gegeben und darin 3 g $CaCl_2 \cdot 6H_2O$ gelöst. Nach Zusatz von 5 g Zinkstaub wird die Lösung 10 Min. auf dem Wasserbad erhitzt. Danach wird der Zinkschlamm abgesaugt und die inzwischen gelb gefärbte Lösung auf zwei Drittel eingeengt.
Nach dreitägigem Stehen Bei RT bilden sich lange, gelbe Nadeln, die in Bündeln kristallisieren.
Diese werden nach einem weiteren Tag abgesaugt, mit wenig Wasser gewaschen und getrocknet.
Die in Ethanol und Aceton gut lösliche Substanz kann jedoch aus den üblichen organischen Lösungsmitteln nicht umkristallisiert werden.

Schmp.(M): 147-148°C

DC: R_f = 0,51 (FM I)
R_f = 0,35 / 0,48 (FM VI)

^{13}C-NMR-Spektrum (DMSO-d_6):

165,67	C_q	-CO-	124,65	C_t	ar
163,35	C_q	-CO-	121,41	C_t	ar
147,84	C_q	ar	69,25	C_t	-$\underline{C}HCl_2$
147,56	C_q	ar	69,04	C_t	-$\underline{C}HCl_2$
146,39	C_q	ar	66,52	C_t	Ar-$\underline{C}H$-O-
145,45	C_q	ar	60,26	C_s	-$\underline{C}H_2OH$
145,16	C_q	ar	56,99	C_t	-$\underline{C}H$-NH-
142,28	C_q	ar	56,67	C_t	-$\underline{C}H$-NH-
126,78	C_t	ar	42,52	C_s	-$\underline{C}H_2Cl$
126,51	C_t	ar			

Säulenchromatographische Trennung des Gemischs **22**

Säule: Länge 1m, Ø 3 cm, Füllhöhe 90 cm

Sorbens: Kieselgel 60 MERCK, Korngröße 0,063-0,2 mm

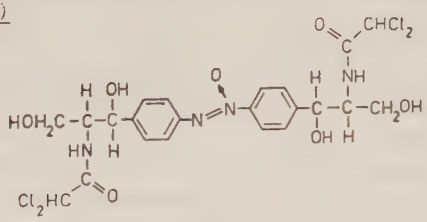
Fließmittel: Ether / Ethanol (95/15).

Nach Waschen der gefüllten Säule mit 200 ml Fließmittel werden 170 mg **22** , gelöst in 10 ml Fließmittel, aufgegeben und mit Seesand abgedeckt. Danach werden bei einer Tropfgeschwindigkeit von 40 Tr./Min. Fraktionen zu 550 Tr. aufgefangen.
Nach 14 Std. wird die Geschwindigkeit auf 50 Tr./Min. erhöht und das Fraktionsvolumen auf 1000 Tr. festgelegt. Nach weiteren 26 Std. ist auch die Elution der zweiten Komponente abgeschlossen und die einzelnen Fraktionen können nach dc Untersuchung aufgearbeitet werden.
Fraktionen 75 - 100 enthalten **22a** ,
Fraktionen 105 - 140 enthalten **22b** .

Durch Einengen der vereinigten Fraktionen ist in beiden Fällen ein gelbes, zähes Öl zu erhalten, das nicht zur

Kristallisation gebracht werden kann. Durch Überschichten mit $CHCl_3$ und längerem Stehen im Tiefkühlfach erstarren die Öle und können nach scharfem Trocknen als amorphfeste Substanzen entnommen werden.

a) 4,4'-Bis-[2-(2,2-dichloracetylamino)-1,3-dihydroxypropyl]-azoxybenzol (**22a**)



DC: R_f = 0,48 (FM VI)

IR-Spektrum: 3400 (br), 1675, 1530, 1460, 1410, 1385, 1330, 1275, 1075, 1045, 1015, 855, 815, 775.

^{1}H-NMR-Spektrum (DMSO-d_6): (s. Abb. 4)

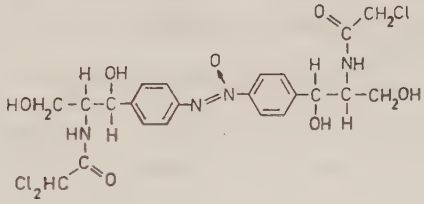
8,0 - 8,3	m, 6H, 2H austauschbar, 4 ar. H und 2 -NH-CO-
7,43 - 7,65	m, 4H, 4 ar. H
6,64 / 6,52	2s, 2H, 2 -CHCl$_2$
5,8 - 5,9	2d, 2H, austauschbar, 2 Ar-C-OH, ^{3}J = 5 Hz
4,85 - 5,01	m, 4H, 2H austauschbar, 2 Ar-CH-O- und 2 -C^3-OH
3,3 - 4,0	m, 6H, 2 -C^{3}H$_2$-O- und 2 -C^{3}H-N-

Massenspektrum (CI, CH_4): kein M^+; 447/449 (2/1), 419/421 (1/0,5), 391/393 (5/2), 323/325 (3/2), 305/307 (3/4), 279 (14), 259 (14) 243 (100), 235 (11), 225 (8), 205 (3), 180 (44), 159 (60), 143 (95), 135 (20), 119 (13).

$C_{22}H_{24}Cl_4N_4O_7$ (598,3)

Elementaranalyse s. unter **22b** .

b) 4-[2-(2,2-Dichloracetylamino)-1,3-dihydroxypropyl]-4'-[2-(2-chloracetylamino)-1,3-dihydroxypropyl]-azoxybenzol (**22b**)



DC: R_f = 0,35 (FM VI)

IR-Spektrum: Mit Ausnahme der auf die Chlorsubstitution zurückzuführenden schwächeren Valenzschwingungsbande bei 810 cm^{-1} gleiches Spektrum wie **22a**.

^{1}H-NMR-Spektrum (DMSO-d_6): (s. Abb. 4)

7,7 - 8,3	m, 6H, 2H austauschbar, 4 ar. H und 2 -NH-CO-
7,3 - 7,7	m, 4H, 4 ar. H
6,54 / 6,52	2s, 1H, $-CHCl_2$
5,7 - 5,95	m, 2H, austauschbar, Ar-C-OH
4,75 - 5,08	m, 4H, 2H austauschbar, 2 Ar-CH- und 2 $-C^3$-OH
4,02	s, 2H, $-CH_2Cl$
3,3 - 4,0	m, 6H, 2 $-C^3H_2$-O- und 2 $-C^2H$-N-

Massenspektrum: Kein M^+; höchstes sichtbares Massenbruchstück: 447. Ansonsten abbaugleich mit **22a**.

$C_{22}H_{25}Cl_3N_4O_7$ (563,8)

Die Einzelkomponenten **22a** und **22b** ergaben, da keine Reinigung durch Umkristallisation möglich war, die für direkt sc gewonnenen Verbindungen üblicherweise ungenauen elementaranalytischen Werte.

Die Verbrennung des in Form von Mischkristallen vorliegenden Gemischs ergab - ein 1:1-Verhältnis zugrundegelegt -

folgende Werte:

$C_{22}H_{24}Cl_4N_4O_7$ (598,8) : **22a**

$C_{22}H_{25}Cl_3N_4O_7$ (563,3) : **22b**

$C_{44}H_{49}Cl_7N_8O_{14}$ (1162,1) : **22**

Ber.	C	45,48	H	4,25	N 9,64
Gef.	C	45,36	H	4,30	N 9,62

15. N-[2-(4-Nitrophenyl)-ethyl]-dichloracetamid (**23**)

Darstellung analog Lit.[25] aus 20,2 g (0,1 Mol) [2-(4-Nitrophenyl)-ethyl]-amin (**29**); siehe Darstellungsweise für **11** - **14** sowie **16** und **18**.

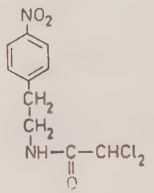
Nach Gießen in Eiswasser scheidet sich ein braunes Öl ab, das beim Rühren erstarrt. Die mit Wasser angeteigte Substanz wird unter Erwärmen solange mit Ethanol versetzt, bis alles in Lösung gegangen ist. Beim Abkühlen setzt sich erneut ein braunes, ölig-zähes Produkt ab, während sich darüber eine hellgelbe, amorphe Substanz bildet. Durch zweimaliges Umkristallisieren dieser Substanz aus verd. Ethanol erhält man gelblich-weiße Nädelchen.

Ausbeute: 10 g (45%)

Schmp. (M): 85°C Lit.[91] : 89-90°C

DC: R_f = 0,6 (FM II)

IR-Spektrum: 3280, 3100, 3000, 1675, 1605, 1570, 1510, 1440, 1350, 1320, 1220, 1205, 1110, 1050, 855, 815, 755, 700, 670.



---

91) M.C.REBSTOCK, G.W.MOERSCH, A.C.MOORE und J.M.VANDENBELT, J. Am. Chem. Soc. 73, 3666 (1951)

^{1}H-NMR-Spektrum (DMSO-d_6):

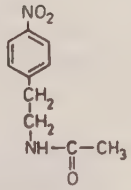
8,45 - 8,8	breites Signal, 1H, austauschbar, -NH-CO-
8,25 / 7,55	AA'BB', erscheint als AB, 4 ar. H, J_{AB}= 9 Hz
6,45	s, 1H, -CHCl$_2$
3,3 - 3,7	m, 2H, -CH$_2$-N-
2,8 - 3,2	m, 2H, Ar-CH$_2$-

Massenspektrum: 277/279 (8/6, M^+), 258/260 (3/2), 193 (3), 149 (78), 142 (19), 140 (31), 137 (100), 133 (11), 119 (15), 107 (22), 103 (24), 89/90/91 (je 28), 83 (29), 77/78/79 (je 22), 63 (16), 51 (15).

$C_{10}H_{10}Cl_2N_2O_3$ (277,1)

Ber.	C	43,32	H	3,64	N 10,11
Gef.	C	43,48	H	3,76	N 10,25

16. N-[2-(4-Nitrophenyl)-ethyl]-acetamid(**30**)



4g (0,02 Mol) **29** werden mit 3 ml Acetanhydrid versetzt und unter Rühren bis zur vollständigen Lösung erhitzt. Nach ca. 15 Min. wird abgebrochen und der Kolbeninhalt auf Eis gegossen; es setzt sich ein dunkelgelbes Öl ab. Die Lösung wird anschließend mit $NaHCO_3$-Lösung neutralisiert und dreimal mit Ether extrahiert. Die vereinigten Etherphasen werden zunächst mit 2proz. $NaHCO_3$-Lösung, sodann mit 0,01 N-HCl gegengeschüttelt. Nach Trocknen über Na_2SO_4 wird das Lösungsmittel abgezogen. Es bleibt ein hellgelbes Öl zurück, das nach einstündigem Kochen am Rückfluß mit Petrolether 60/80° in hellgelben Blättchen kristallisiert.

Ausbeute: 3,2 g (77%)

Schmp. (M): 138-139°C Lit.[92]: 141°C

---

92) G.BARGER und G.S.WALPOLE, J. Chem. Soc. 95, 1722 (1909)

DC: R_f = 0,66 (FM I)

IR-Spektrum: 3300, 3080, 1645, 1600, 1555, 1510, 1345, 1280, 1200, 1110, 1060, 1035, 1015, 995, 865, 855, 810, 750, 700.

^{1}H-NMR-Spektrum (DMSO-d_6):

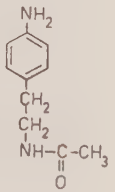
8,15 / 7,48	AA'BB', erscheint als AB, 4 ar.H, J_{AB}= 9 Hz
7,57 - 8,07	breites Signal, 1H, austauschbar, -NH-CO-
3,20 - 3,51	m, 2H, -CH_2-N-
2,75 - 2,92	t, 2H, Ar-CH_2-, ^3J = 7 Hz
1,77	s, 3H, -CH_3

Massenspektrum: 208 (5, M^+), 191 (2), 149 (9), 137 (18), 132 (5), 120 (12), 107 (9), 103 (11), 89 (13), 77 (10), 72 (100), 57 (14), 43 (67).

$C_{10}H_{12}N_2O_3$ (208,3)

Ber.	C	57,68	H	5,81	N 13,45
Gef.	C	57,45	H	5,88	N 13,21

17. N-[2-(4-Aminophenyl)-ethyl-]acetamid (**24**) durch katalytische Reduktion von **30** .



150 mg **30** werden in 200 ml Ethanol gelöst und mit 100 mg 10 proz. Pd/C-Katalysator versetzt. Die anschließende Hydrierung erfolgt in einer Schüttelapparatur bei RT und 1 bar Wasserstoffdruck.
Schon nach 15 Min. ist bei fast unmerklichem H_2-Verbrauch auf dem DC die Ausgangsverbindung vollständig zugunsten einer mit Ehrlichs Reagenz anfärbbaren Zone verschwunden. Nach Abfiltrieren des Katalysators wird das Lösungsmittel vollständig abgezogen. Zurück bleibt ein hellgelbes, nicht zur Kristallisation zu brin-

gendes Öl, wie es auch in der Lit.[93] beschrieben wird.

DC: R_f = 0,26 (FM II)

IR-Spektrum: 3450, 3000, 1670 (br), 1625, 1510, 1440, 1365, 1275, 1180, 1030, 1000, 980, 830.

^{1}H-NMR-Spektrum ($CDCl_3$):

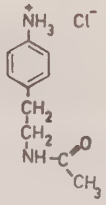
6,7 / 7,0	AA'BB', erscheint als AB, 4 ar. H, J_{AB}= 8 Hz
5,5 - 6,0	breites Signal, 1H austauschbar, -NH-CO-
3,2 - 3,7	m, 4H, 2H austauschbar, $-CH_2-\overset{+}{N}-$ und Ar-NH_2
2,5 - 2,85	m, 2H, Ar-CH_2-
1,9	s, 3H, $-CH_3$

Massenspektrum: Wegen der ölig-harzigen Konsistenz war das Massenspektrum schwer aufzunehmen und ergab nur wenige Massenbruchstücke unter 100 m/e.

$C_{10}H_{14}N_2O$ (178,2)

Eine Elementaranalyse konnte aufgrund der Konsistenz der Verbindung nicht durchgeführt werden.

18. N-[4-(2-Acetylaminoethyl)-phenyl]-ammoniumchlorid (**24-HCl**)



Die vom Katalysator befreite Hydrierlösung von **24** wird mit einer äquimolaren Menge Salzsäure (7,5 ml 0,1 N-HCl) versetzt und danach bis auf wenige ml eingeengt. Ein Zusatz von Ether hat sofortige Trübung zur Folge. Durch Reiben mit einem Glasstab entstehen im Kühlschrank weiße Nädelchen, die nach Abfiltrieren aus Ethanol/Ether umkristallisiert werden können.

---

93) T.JOHNSON und H.GUEST, Am. Chem. J. 43, 314 (1910)

Schmp. (M): 192-193°C (Z); Lit.[93]: 195°C (Z)

DC: Nach Freisetzen der Base **24**: R_f = 0,26 (FM II)

IR-Spektrum: 3300, 2900 (br), 2580, 1670, 1650, 1530, 1500, 1400, 1370, 1325, 1300, 1230, 1190, 1130, 1075, 1020, 820, 790.

^{1}H-NMR-Spektrum (DMSO-d_6):

8,8 - 11,2	sehr breites Signal, 3H, austauschbar, $-\overset{+}{N}H_3$
8,23 - 8,63	breites Signal, 1H, austauschbar, -NH-CO-
7,33	s, 4 ar. H
3,03 - 3,63	m, 2H, $-CH_2-\overset{+}{N}-$
2,6 - 2,95	m, 2H, $Ar-CH_2-$
1,8	s, 3H, $-CH_3$

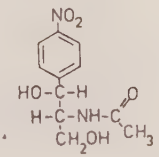
Massenspektrum: 214 (23, M^+), 212 (70), 178 (16), 162 (3), 147 (9), 134 (28), 132 (20), 121 (9), 119 (100), 117 (90), 106 (95), 91 (58), 79 (97), 65 (51), 51 (62).

$C_{10}H_{15}N_2O]^+ Cl^-$ (214,7)

Ber.	C	55,94	H	7,04	N 13,04
Gef.	C	55,37	H	6,87	N 13,13

19. N-[2-Hydroxy-1-hydroxymethyl-2-(4-nitrophenyl)-ethyl]-acetamid (**28**)

Darstellung nach Lit.[38], procedure (a), aus 3 g 2-Amino-1-(4-nitrophenyl)-propan-1,3-diol (**27**) und 9 ml Acetanhydrid.



Ausbeute: 1,75 g (49%)

Schmp. (L): 127°C Lit.[38]: 125-126°C

DC: R_f = 0,25 (FM VI)

IR-Spektrum: 3430, 3140(br), 2920, 1660, 1610, 1520, 1440, 1420, 1350, 1320, 1280, 1200, 1110, 1070, 1010, 960, 885, 870, 840, 820, 740, 705, 650.

^{1}H-NMR-Spektrum (DMSO-d_6):

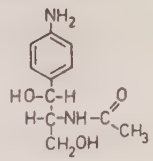
8,17 / 7,58	AA'BB', erscheint als AB, 4 ar.H, J_{AB}= 9 Hz
7,49 - ?	breites Signal, teilweise unter ar. H, 1H, austauschbar, -NH-CO-
5,79	d, 1H, austauschbar, Ar-C-OH, ^3J = 5 Hz
5,0	dd, 1H, Ar-CH-O-, ^3J = 5 Hz
4,82	t, 1H, austauschbar, -C^3-OH, ^3J = 5 Hz
3,1 - 4,15	m, 3H, -C^2H-C^3H_2-O-
1,70	s, 3H, -CH_3

Massenspektrum: 254 (1, M^+), 334 (1), 223 (1), 205 (2), 181 (5), 153 (7), 136 (7), 117 (5), 106 (7), 102 (41), 85 (26), 77 (12), 60 (100), 43 (73).

$C_{11}H_{14}N_2O_5$ (254,3)

Ber.	C	51,97	H	5,57	N 11,03
Gef.	C	51,82	H	5,55	N 10,94

20. N-[2-Hydroxy-1-hydroxymethyl-2-(4- aminophenyl)-ethyl]-acetamid (**25**)



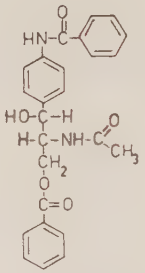
Darstellung durch katalytische Reduktion von **28**.
0,8 g **28** werden in 500 ml Ethanol gelöst und mit 100 mg 10 proz. Pd/C-Katalysator versetzt. Danach wird bei RT und 1 bar Wasserstoffdruck in einer Schüttelente hydriert. Nach 30 Min. erfolgt keine H_2-Aufnahme mehr. Es wird vom Katalysator abfiltriert und die ethanolische Lösung weitgehend eingeengt. Die nicht kristallisierende Verbindung ist dc rein; Charakterisierung

erfolgt als Dibenzoylderivat **26**.

Ausbeute: 0,4 g (57%)

DC: R_f = 0,23 (FM VI)

21. 2-Acetylamino-3-(4-benzoylamino-phenyl)-3-hydroxy-propyl-1-benzoat (**26**)



0,4 g (2 mmol) **25** werden in 10 ml wasserfreiem Pyridin gelöst. Nach Kühlen unter 0°C wird unter Rühren eine Lösung von 0,6 g (6 mMol) Benzoylchlorid in 5 ml Ether innerhalb von 5 Min. zugetropft. Es entsteht ein weißer, breiiger Niederschlag. Der Ansatz wird unter Kühlung noch weitere 30 Min. gerührt, sodann vom ausgefallenen Pyridiniumchlorid abgetrennt und das Filtrat mit einigen ml Ether versetzt. Es tritt sofort eine milchige Trübung auf, wonach durch Reiben mit einem Glasstab und 30 Min. Tiefkühlen ein weißes, amorphes Produkt ausfällt. Nach Umkristallisieren aus Ether/Ethanol (10:90) erhält man weiße, filzige Nadeln.

Schmp. (M): 220°C

DC: R_f = 0,37 (FM I)

IR-Spektrum: 3400 (br), 1770, 1660 (br), 1600, 1530, 1510, 1450, 1350, 1240, 1075, 1040, 1015, 840, 815, 780, 705.

^{1}H-NMR-Spektrum (DMSO-d_6):

10,21	s, 1H, austauschbar, Ar-N<u>H</u>-CO-Ar
7,15 - 8,0	m, 15H, 1H austauschbar, 14 ar. <u>H</u> und -N<u>H</u>-CO-CH_3
5,63	d, 1H, austauschbar, Ar-C-O<u>H</u>, ^3J = 5 Hz
4,82	m, 1H, Ar-C<u>H</u>-
3,9 - 4,5	m, 3H, -C^2<u>H</u>-C<u>H</u>$_2$-O-
1,78	s, 3H, -C<u>H</u>$_3$

Massenspektrum: Kein M^+; 414 (1), 373 (1), 310 (1), 292 (1), 279 (2), 252 (1), 225 (6), 147 (1), 133 (2), 122 (8), 105 (100), 85 (24), 77 (60), 68 (6), 51 (16), 43 (22).

$C_{25}H_{24}N_2O_5$ (432,5)

Ber.	C	69,43	H	5,59	N 6,48
Gef.	C	69,55	H	5,43	N 6,55

22. Allgemeine Arbeitsvorschrift für die katalytische Hydrierung von **20** , **22** und **23** mittels Raney-Nickel bei gleichzeitiger Chlorabspaltung

5 mmol **20** , **22** , oder **23** werden in 150 ml Ethanol gelöst und nach Zusatz von 5,6 g (nach Abtropfen) Raney-Nickel-Suspension (40% in Wasser) sowie 4 ml 10 proz. Natronlauge (bei **22** : 7 ml) in einer Schüttelapparatur bei RT und 1 bar Wasserstoffdruck hydriert.

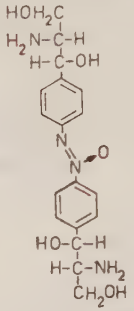
Bei **20** und **23** werden dabei je 25 mmol, bei **22** ca. 7 mmol Wasserstoff für die Reduktion der aromatischen Nitro- bzw.. Azoxygruppe sowie für die hydrogenolytische Chlorabspaltung aufgenommen.

Nach ca. 30 Min. wird abgebrochen; die Lösung reagiert dann neutral, und die gelbe Farbe der gelösten Nitro- bzw. Azoxyverbindungen ist verschwunden. Der Katalysator wird abfiltriert und die hydrierten Verbindungen durch Einengen der ethanolischen Lösungen gewonnen. Dabei wird **24** , wie die authentische Substanz auch, als Hydrochlorid **24-HCl** , **25**, als Hydrierprodukt von **20** und **22**, als dessen Dibenzoylderivat **26** isoliert und charakterisiert.

24 bzw. **24-HCl** sowie **26** zeigen jeweils die gleichen Eigenschaften wie die unabhängig dargestellten Verbindungen; die spektroskopischen Analysen führen zu gleichen Ergebnissen. Alle so durch Hydrierung gewonnenen Substanzen sind analysenrein.

23. 4,4'-Bis-(2-amino-1,3-dihydroxypropyl)-azoxybenzol (**31**)

durch saure Hydrolyse von **22**, analog Lit.[38]



300 mg des Gemischs **22** werden in 2 ml 1N-HCl suspendiert und 90 Min. auf dem Wasserbad gerührt. Dabei geht der überwiegende Teil in Lösung. Danach wird abgekühlt, vom Ungelösten abfiltriert und anschließend mit N-NaOH neutralisiert.
Das DC zeigt die Ausgangsverbindung nur noch in Spuren, während der sehr hydrophile"Azoxyaminoalkohol" **31** am Start verbleibt.

24. Periodat-Spaltung von **31**

Die neutralisierte, durch Hydrolyse von **22** erhaltene Lösung wird mit 25 ml Wasser und 50 ml Ethanol versetzt und eine Lösung von 1,6 g Na-metaperiodat in 75 ml Wasser hinzugefügt. Nach Stehen über Nacht bei RT bildet sich ein feinkörniger, gelber Niederschlag, der nach weiterem eintägigem Stehen abfiltriert wird (68 mg).
Das Filtrat wird, da noch beträchtliche Mengen der Verbindung dc zu erkennen sind, dreimal mit Ether ausgeschüttelt. Nach Abziehen des Lösungsmittels erhält man erneut 27 mg. Umkristallisation erfolgt aus verdünnter Essigsäure.

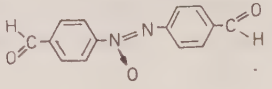
Ausbeute: 95 mg (75%)

Schmp. (M): 194-195°C Lit.[39]: 194°C

Die so erhaltene Verbindung ist identisch mit dem unabhängig dargestellten Azoxybenzaldehyd (**32**).

25. *p*-Azoxybenzaldehyd (**32**)

Darstellung analog Lit.[39].



2 g (13 mmol) 4-Nitrobenzaldehyd werden in 150 ml Wasser suspendiert

und zum Sieden erhitzt, wobei fast alles in Lösung geht. Danach werden 12 g Zinkstaub innerhalb von 5 Min. eingetragen und anschließend schnell unter Lichtausschluß abgekühlt. Dabei fällt nicht umgesetzter 4-Nitrobenzaldehyd wieder aus. Nach dessen Abtrennung wird durch das gelb gefärbte Filtrat längere Zeit Luft geblasen, wodurch sich bald eine Trübung, später Abscheiden einer weißgelblichen Substanz einstellt.
Nach Absaugen und Trocknen wird das Produkt mit Ligroin extrahiert. Aus der heißen Lösung kristallisieren gelbe Nädelchen vom Schmp. 192°C. Nach Umkristallisieren aus verdünnter Essigsäure erhält man hellgelbe Nadeln.

Ausbeute: 0,8 g (52%)

Schmp. (M): 194-195°C Lit.[39]: 194 °C

DC: R_f = 0,34 (FM VII)

IR-Spektrum: 3110, 2860, 2750, 1690 (br), 1600, 1515, 1465, 1395, 1330, 1300, 1220, 1200, 1155, 1115, 1010, 860, 835, 790, 725, 720, 650.

^{1}H-NMR-Spektrum ($CDCl_3$):

10,18 / 10,08	2s, 2H, 2 -CHO
7,9 - 8,8	m, 8 ar. H

Massenspektrum: 254 (53, M^+), 238 (8), 226 (10), 197 (5), 169 (15), 141 (14), 133 (42), 121 (12), 119 (8), 115 (8), 105 (100), 91 (25), 77 (58), 65 (35), 51 (37).

$C_{14}H_{10}N_2O_3$ (254,3)

Ber.	C	66,14	H	3,96	N 11,02
Gef.	C	66,48	H	4,10	N 10,90

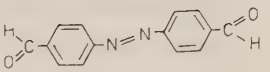
26. *p*-Azobenzaldehyd (**33**)

Darstellung nach Lit.[94] durch Kondensation von 4-Nitroso-

---

94) F.J.ALWAY und W.D.BONNER, J. Am. Chem. Soc. 27, 1119 (1905)

benzaldehyd mit 4-Aminobenzaldehyd in alkoholisch-essigsaurer Lösung.



Schmp. (M): 236°C Lit.[77]: 239°C

DC: R_f = 0,39 (FM VII)

IR-Spektrum: 2850, 2750, 1700 (br), 1600, 1580, 1390, 1315, 1295, 1290, 1200, 1110, 1000, 860, 835, 780, 730, 650.

^{1}H-NMR-Spektrum ($CDCl_3$; sehr schwer löslich!):

10,05	s, 2H, 2 -CHO
8,0 / 7,6	2 AA'BB', erscheinen als 2 AB, 8 ar. H

J_{AB} = 8 Hz

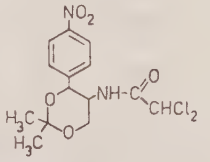
Massenspektrum: 238 (75, M^+), 152 (13), 133 (31), 105 (100), 77 (62), 63 (6), 51 (38).

$C_{14}H_{10}N_2O_2$ (238,3)

Ber.	C	70,57	H	4,23	N 11,75
Gef.	C	69,76	H	4,09	N 11,44

27. 5-(2,2-Dichloracetylamino)-2,2-dimethyl-4-(4-nitrophenyl)-1,3-dioxacyclohexan (**34**)

Darstellung in Anlehnung an Patentschriften[41-43].
3,2 g (0,01 Mol) Chloramphenicol werden in 22 ml wasserfreiem Aceton gelöst und nach Zusatz von 2,2 g wasserfreiem Kupfersulfat 5 Tage lang bei RT magnetisch gerührt. Danach wird das Kupfersulfat abgetrennt und die schwach gelb gefärbte Lösung auf wenige ml eingeengt. Beim Erkalten tritt Kristallisation ein. Durch Waschen mit wenig kaltem Ethanol können Restspuren von Chloramphenicol entfernt werden. Nach Umkristallisieren aus 70 proz. Ethanol erhält man weißlich-gelbe Nadeln.



Ausbeute: 3,1 g (85%)

Schmp. (M): 150-151°C Lit.[41]: 149°C

DC: R_f = 0,64 (FM II)

IR-Spektrum: 3420, 3000, 1715, 1605, 1520, 1380, 1350, 1270, 1230, 1200, 1170, 1120, 1085, 1060, 950, 880, 855, 810, 760, 705.

^{1}H-NMR-Spektrum (DMSO-d_6):

8,46	d, 1H, austauschbar, -N<u>H</u>-CO-, ^3J = 9 Hz
8,18 / 7,57	AA'BB', erscheint als AB, 4 ar. <u>H</u>, J_{AB}= 9 Hz
6,51	s, 1H, -C<u>H</u>Cl_2
5,49	d, 1H, Ar-C<u>H</u>-O-
4,06 - 4,45	m, 2H, -C^6<u>H</u>$_2$-O-
3,58 - 3,75	m, 1H, -N-C^5<u>H</u>-
1,54	s, 6H, 2 -C<u>H</u>$_3$

Massenspektrum: 363/65 (<1, M^+),347/349 (<1), 305/307 (2/1), 241/243 (1/<1), 211/213 (5/3), 177 (2), 153/155 (100/60), 118 (17), 104 (5), 90 (10), 83 (17), 76 (11), 60 (81), 49 (16)

$C_{14}H_{16}Cl_2N_2O_5$ (363,2)

Ber.	C	46,30	H	4,44	N 7,71
Gef.	C	46,11	H	4,44	N 7,49

28. Umsetzung von **34** analog der Prüfvorschrift für "Chloramphenicolum" nach Ph.Eur.

1 g (3 mmol) **34** werden in 100 ml Ethanol gelöst und nach Zusatz von 150 ml Wasser, 2 g $CaCl_2 \cdot 6H_2O$ und 5 g Zinkstaub 10 Min. auf dem siedenden Wasserbad behandelt. Danach wird vom Zinkschlamm abgetrennt und das Filtrat erkalten lassen. Es scheidet sich allmählich ein gelbes Produkt ab, das nach sechsstündigem Stehen in der Menge nicht mehr zunimmt. Es wird abgesaugt, mit Wasser gewaschen und getrocknet.

Nach DC handelt es sich um ein Gemisch (**35**) dreier Komponenten: R_f = 0,65 / 0,5 / 0,3 (FM II).

Säulenchromatographische Trennung des Gemischs **35** :

Säule: Länge 100 cm, Ø 3 cm, Füllhöhe 90 cm

Sorbens: Kieselgel 60 MERCK, Korngröße 0,063-0,2

Fließmittel: Aceton / Ethylacetat (10:90)

Nach Waschen der gefüllten Säule mit 300 ml Fließmittel (bis klare Flüssigkeit abtropft) werden 200 mg **35** in Lösung aufgegeben und nach Einziehen in das Sorbens mit Seesand abgedeckt. Bei einer Tropfgeschwindigkeit von 90 Tr./Min. werden 140 Fraktionen à 10 ml aufgefangen.
Die dc Aufarbeitung zeigt, daß folgende Fraktionen die getrennten Komponenten enthalten:

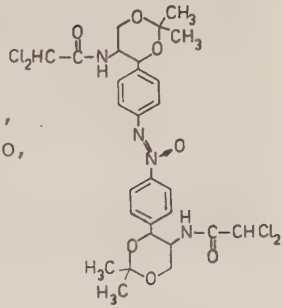
- Fraktionen 47-62 : **35a**
- Fraktionen 65-86 : **35b**
- Fraktionen 102-140: **35c**

Nach Vereinigen der jeweiligen Fraktionen werden diese auf wenige ml eingeengt. Ein Zusatz von Ligroin führt zur Ausfällung der Verbindungen als hellgelbe, amorphe Produkte. Nach Absaugen und Trocknen erhält man

- 25 mg **35a**
- 48 mg **35b**
- 45 mg **35c**

Eine Umkristallisation kann - sofern es die Substanzmengen zulassen - aus Cyclohexan / Chloroform vorgenommen werden. Es entstehen hellgelbe bis orangegelbe Kristallrhomben.

a) 4,4'-Bis-[5-(2,2-dichloracetylamino)-2,2-dimethyl-1,3-dioxacyclohexan-4-yl]-azoxybenzol (**35a**)



Schmp. (M): 233°C

DC: R_f = 0,65 (FM II)

IR-Spektrum: 3420, 3000, 1695(br), 1525, 1460, 1380, 1275, 1240, 1200, 1170, 1130, 1090, 950, 850, 810.

^{1}H-NMR-Spektrum (DMSO-d_6):

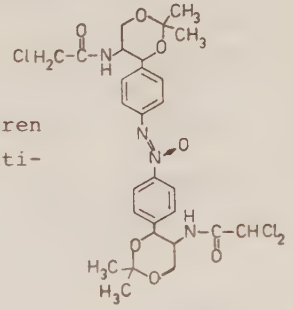
8,2 - 8,45	m, 2H, austauschbar, 2 -NH-CO-
7,85 - 8,2	m, 4 ar. H
7,25 - 7,6	m, 4 ar. H
6,54 / 6,56	2s, 2H, 2 -CHCl$_2$
5,25 - 5,45	m, 2H, 2 Ar-CH-O-
3,9 - 4,45	m, 4H, 2 -C^{6}H$_2$-O-
3,45 - 3,75	m, 2H, 2 -N-C^{5}H-
1,55 / 1,53	2s, 12H, 4 -CH$_3$

Massenspektrum (CI/CH_4): Unterhalb von 300°C sind keine Massenbruchstücke feststellbar. Durch schnelles Aufheizen über 300°C sind bei allen drei Verbindungen nur einige wenige Bruchstücke zu erhalten. M^+ ist nur bei **35c** schwach erkennbar.
Bruchstücke: 593/595, 551/553, 536/538.

$C_{28}H_{32}Cl_4N_4O_7$ (678,4)

Ber.	C	49,57	H	4,75	N	8,26	Cl	20,90
Gef.	C	49,65	H	4,88	N	8,19	Cl	20,74

b) 4-[5-(2,2-Dichloracetylamino)-2,2-dimethyl-1,3-dioxacyclohexan-4-yl]-4'-[5-(2-chloracetylamino)-2,2-dimethyl-1,3-dioxacyclohexan-4-yl]-azoxybenzol (**35b**)



Schmp. (M): 220°C

DC: R_f = 0,5 (FM II)

IR-Spektrum: Mit Ausnahme einer schwächeren Valenzschwingungsbande bei 810 cm^{-1} identisches Spektrum mit **35a**.

^{1}H-NMR-Spektrum (DMSO-d_6):

Unterschiede gegenüber **35a**:

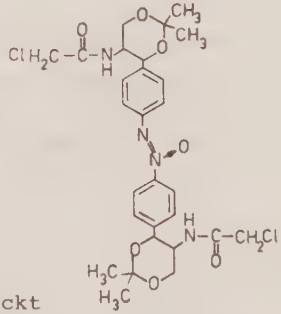
6,54 / 6,57	2s, 1H, $-C\underline{H}Cl_2$
3,96	s, 2H, $-CH_2Cl$

Massenspektrum (CI/CH_4):
vgl. **35a**; kein M^+

$C_{28}H_{33}Cl_3N_4O_7$ (643,9)

Ber.	C 52,23	H 5,17	N 8,70	Cl 16,51
Gef.	C 52,28	H 5,13	N 8,72	Cl 16,40

c) 4,4'-Bis-[5-(2-chloracetylamino)-2,2-dimethyl-1,3-dioxacyclohexan-4-yl]-azoxybenzol (**35c**)



Schmp. (M): 111°C

DC: R_f = 0,3 (FM II)

IR-Spektrum: Gegenüber **35a** und **35b** lediglich unterschiedlich durch Fehlen der Valenzschwingungsbande bei 810 cm^{-1}.

^{1}H-NMR-Spektrum (DMSO-d_6:
Unterschiede gegenüber **35a**:
a) Amid-Protonen-Signale durch Ar-H verdeckt
b) Fehlen des $-C\underline{H}Cl_2$-Signals bei ca. 6,5 ppm
c) 3,95 / 3,97: 2s, 4H, 2 $-C\underline{H}_2Cl$

Massenspektrum (CI/CH_4):

vgl. **35a** ; M^+ = 609/611

$C_{28}H_{34}Cl_2N_4O_7$ (609,5)

Ber.	C	55,18	H	5,62
Gef.	C	55,38	H	5,76

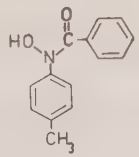
29. Darstellung von **35a** und **35b** aus **22** durch Acetonid-Bildung

Analog Vorschrift für **34** .
200 mg **22** werden in 3 ml wasserfreiem Aceton gelöst und mit 200 mg wasserfreiem Kupfersulfat versetzt.
Nach 5-tägigem Rühren wird abfiltriert, das Aceton weitgehend abgezogen, mit einigen Tropfen Ligroin versetzt und weiter eingeengt. Durch Abkühlen unter Schütteln entsteht ein feiner, hellgelber Niederschlag, der nach Abfiltrieren mit Petrolether 40°/60° nachgewaschen wird.

DC: Auftrennung in zwei Substanzzonen;
R_f = 0,65 / 0,5 (FM II);
Mischauftragung mit **35a,b** ergibt die gleichen beiden Zonen.

IR-Spektrum: identisch mit einem künstlichen Gemisch aus **35a** und **35b**.

30. N-(*p*-Tolyl)-benzhydroxamsäure (**36**)



Darstellung analog Lit.[49]
Zu einer Lösung von 12,3 g (0,1 Mol) **2** in 20 ml Ether werden nach Zugabe von 9,5 g Pyridin bei 0°C insgesamt 12,5 g Benzoylchlorid über eine Stunde lang zugetropft.
Es entsteht ein gelbbrauner, klebriger Niederschlag, der nach Absaugen mit 2N-HCl behandelt wird und sich nach Waschen mit Wasser und $NaHCO_3$-Lösung in konz. Ammoniak-Lösung weitgehend löst (30 Min. Rühren). Das Filtrat wird

anschließend in kalte 6N-HCl gegossen. Es entsteht sofort unter Erwärmung der Lösung ein weißer Niederschlag, der nach dem Abkühlen abgesaugt wird.
Umkristallisieren aus Petrolether / Benzol (50:50) liefert weiße, filzige Nadeln, die sich mit Eisen(III)-chlorid-Lösung tiefviolett färben.

Ausbeute: 5,9 g (26%)

Schmp. (M): 110°C Lit.[49]: 111°C

DC: R_f = 0,53 (FM I)

IR-Spektrum: 3110 (br), 2870 (br), 1645, 1600, 1580, 1510, 1450, 1390, 1180, 1160, 1110, 1075, 1030, 1010, 920, 830, 800, 790, 720, 700, 680.

^{1}H-NMR-Spektrum (DMSO-d_6):

10,6	s, 1H, austauschbar, -CO-N-O<u>H</u>
7,19 - 7,68	m, 9 ar. <u>H</u>
2,28	s, 3H, -C<u>H</u>$_3$

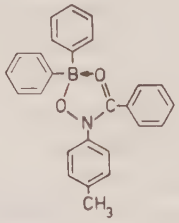
Massenspektrum: 227 (1, M^+), 211 (4), 167 (1), 122 (1), 106 (9), 105 (100), 91 (53), 65 (3), 63 (2), 51 (14).

$C_{14}H_{13}NO_2$ (227,37)

Ber.	C	73,99	H	5,76	N 6,16
Gef.	C	74,20	H	5,85	N 5,98

31. N-Diphenylboryloxy-N-(*p*-tolyl)-benzamid (**37**)

300 mg **36** werden in möglichst wenig Ethanol p.a. gelöst und mit einer konzentrierten ethanolischen Lösung von TPDBO[50] versetzt. In der Regel kristallisiert spontan das Borchelat **37** in weißen Nadeln aus.



Umkristallisation erfolgt aus Ethanol/Ether.

Schmp. (M): 150°C

DC: R_f = 0,78 (FM I); ansprühbar mit DPC-Lösung.

IR-Spektrum: 3070, 3050, 3020, 3000, 1595, 1565, 1505, 1460, 1440, 1430, 1290, 1270, 1210, 1150, 1070, 1035, 1015, 970, 930, 895, 880, 820, 775, 750, 740, 705, 695, 655.

^{1}H-NMR-Spektrum (CCl_4):

7,0 - 7,65	m, 19 ar. H
2,35	s, 3H, $-CH_3$

Massenspektrum: kein M^+; 314 (29, M^+-77), 236 (7), 211 (5), 210 (5), 194 (6), 180 (4), 166 (8), 164 (4), 162 (3), 152-154 (4), 107 (40), 105 (73), 92 (17), 77 (100), 64 (16), 51 (37).

$C_{26}H_{22}BNO_2$ (391,3)

Ber.	C	79,81	H	5,67	N 3,58
Gef.	C	79,93	H	5,65	N 3,50

32. Isolierung von **36** und **38** aus einem Chloramphenicol-analogen Reaktionsansatz nach Ph.Eur.

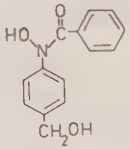
Nach der Zinkstaub-Reduktion von **1** bzw. **6** (Mengenverhältnisse vgl. Isolierung von **3** bzw. **8**) wird vom Zinkschlamm abfiltriert und zu dem warmen Filtrat 5 g Benzoylchlorid gegeben. Nach 1 Min. starken magnetischen Rührens läßt man das nicht verbrauchte bzw. nicht gelöste Benzoylchlorid vollständig absetzen(zur Beschleunigung empfiehlt sich Filtration durch einen Papierfilter). Anschließend wird das Filtrat auf ca. zwei Drittel eingeengt.
Die Lösung wird nun durch Zugabe von wenigen Tr. 2N-NaOH auf pH 11 gebracht und zweimal mit 150 ml Ether extrahiert. Danach darf das DC der wäßrigen Phase keine Zone von **1** bzw.

6 mehr aufweisen; ansonsten muß erneut ausgeschüttelt werden.
Nach Ansäuern der wäßrigen Phase auf pH 2-3 mit verd. H_2SO_4 wird 5-10mal mit je 100 ml Ether ausgeschüttelt, wobei jede Ausschüttel-Fraktion getrennt aufbewahrt wird. Die einzelnen Fraktionen werden dünnschichtchromatographiert, wobei in der Regel lediglich die ersten zwei oder drei Fraktionen unerwünschte Benzoesäure enthalten. Die Benzoesäure-freien, nunmehr ausschließlich **36** bzw. **38** enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und nach Trocknen über Na_2SO_4 eingeengt.
Da aus etherischer Lösung keine Kristallisation eintritt, wird bis zur Trockne eingeengt und der hellgelbe, amorphe Rückstand aus 50proz. Ethanol umkristallisiert. Es werden in beiden Fällen elfenbeinfarbene Kristallplättchen erhalten.
Im Falle von **36** zeigt die so isolierte Substanz die gleichen Eigenschaften wie die unabhängig dargestellte Verbindung; die spektroskopischen Merkmale waren identisch mit der authentischen Verbindung.

N-(4-Hydroxymethylphenyl)-benzhydroxamsäure (**38**)

Schmp. (M): 138-140°C

DC: R_f = 0,36 (FM I)



IR-Spektrum: 3400 (br), 2920, 1615 (br), 1580, 1510, 1455, 1420, 1390, 1310, 1290, 1240, 1220, 1185, 1165, 1120, 1055, 1035, 1010, 1000, 920, 830, 800, 790, 720, 700.

^{1}H-NMR-Spektrum (DMSO-d_6):

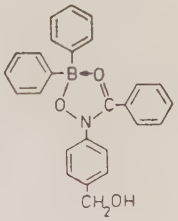
10,6	s, 1H, austauschbar, -CO-N-OH
7,8 - 8,8	m, 9 ar. H
6,0	t, 1H, austauschbar, -C-OH, ^3J = 5 Hz
5,3	d, 2H, $-CH_2-O-$, ^3J = 5 Hz

Massenspektrum: 243 (1, M^+), 227 (1), 196 (1), 121 (25), 105 (100), 77 (57), 65 (5), 51 (11).

$C_{14}H_{13}NO_3$ (243,3)

Ber.	C	69,12	H	5,39	N 5,76
Gef.	C	68,54	H	5,42	N 5,87

33. N-Diphenylboryloxy-N-(4-hydroxymethyl-phenyl)-benzamid (**39**)



Darstellung analog **37** .
Das Borchelat kristallisiert hier jedoch erst nach eintägigem Stehen im Tiefkühlfach.
Umkristallisation aus verd. Ethanol liefert weiße Nadeln.

Schmp. (M): 141°C

DC: Substanz zerfällt in **38** und TPDBO (FM I)

IR-Spektrum: 3400 (br), 3070, 3000, 1595, 1560, 1500, 1460, 1430, 1290, 1210, 1155, 1030, 1010, 970, 930, 900, 880, 780, 750, 740, 705.

^{1}H-NMR-Spektrum ($CDCl_3$):

7,23 - 7,68	m, 19 ar. H
4,73	d, 2H, $-CH_2-O-$, ^3J = 5 Hz
1,82	t, 1H, austauschbar, $-C-OH$, ^3J = 5 Hz

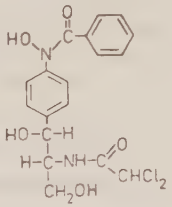
Massenspektrum: kein M^+. 330 (1, M^+-77), 226 (4), 196 (3), 182 (2), 138 (1), 121 (29), 105 (100), 94 (4), 89 (4), 77/78 (58/58), 65 (9), 51 (34).

$C_{26}H_{22}BNO_3$ (407,3)

Ber.	C	76,68	H	5,44	N 3,44
Gef.	C	76,56	H	5,40	N 3,55

34. N-{4-[2-(2,2-Dichloracetylamino)-1,3-dihydroxypropyl]-phenyl}-benzhydroxamsäure (**40**)

Isolierung aus der Prüflösung der Identitätsreaktion A für "Chloramphenicolum" nach Ph.Eur.:



1 g Chloramphenicol (**20**) wird in 50 ml Ethanol gelöst. Nach Verdünnen mit 350 ml Wasser werden 3 g $CaCl_2 \cdot 6H_2O$ und 5 g Zinkstaub zugesetzt und der gesamte Ansatz 5 Min. im siedenden Wasserbad belassen. Danach wird der Zinkschlamm abgesaugt und zu der noch warmen Lösung 4,4 ml Benzoylchlorid unter starkem magnetischem Rühren gegeben. Nach ca. 1 Min. wird abgebrochen, und man läßt das nicht gelöste bzw. nicht verbrauchte Benzoylchlorid absetzen. Die überstehende Lösung, die mit Eisen(III)-chlorid eine tiefviolette Farbe ergibt, wird durch ein Papierfilter dekantiert und in einem Liter-Rundkolben aufgefangen. Es wird auf ca. 250 ml eingeengt und danach viermal mit 125 ml Ether ausgeschüttelt. Dabei färben sich die organischen Phasen deutlich gelb. Die Etherphasen werden auf ca. 200 ml eingeengt und ihrerseits viermal mit 0,001 N-NaOH ausgeschüttelt. Dabei geht die Hydroxamsäure **40** zusammen mit Benzoesäure fast quantitativ in die wäßrige Phase. Zur Abtrennung von Chloramphenicol-Spuren wird zweimal mit ca. 100 ml Ether gegengeschüttelt (stets Vollständigkeit dc prüfen!).
Nach Ansäuern der wäßrigen Phase auf pH 2 mit verd. H_2SO_4 wird zehnmal mit je 100 ml Ether extrahiert, wobei die einzelnen Ausschüttelfraktionen getrennt aufbewahrt werden. Im DC erkennt man, daß lediglich die ersten 2-3 Fraktionen zusätzlich Benzoesäure enthalten. Die Benzoesäure-freien, kaum noch gelb gefärbten Fraktionen werden vereinigt und auf wenige ml eingeengt. Da auf diese Weise keine Kristallisation zu erzielen ist, wird bis zur Trockne eingeengt, wodurch ein harziges, im Vakuum erstarrendes Öl zurückbleibt. Dieses wird 2 Std. lang mit Ether am Rück-

fluß erhitzt. Beim Erkalten der abgetrennten Lösung scheiden sich weißgelbe, dc-reine Kristalle ab.
Ein amorph wirkendes, ebenfalls dc-reines Produkt erhält man, wenn man die eingeengten Etherphasen mehrere Tage bei RT stehen läßt.
Beide Produkte lassen sich aus verd. Ethanol umkristallisieren und liefern elfenbeinfarbene, grobkörnige Kristalle, die sich mit Eisen(III)-chlorid tiefviolett färben.

Schmp. (M): 148-149°C

DC: R_f = 0,33 (FM I)

IR-Spektrum: 3400, 3150 (br), 2940, 2890, 1690, 1620, 1600, 1575, 1560, 1525, 1510, 1460, 1450, 1400 (br), 1350, 1280, 1215, 1160, 1120, 1080, 1060, 1010, 915, 860, 810, 780, 730, 715, 660.

^{1}H-NMR-Spektrum (DMSO-d_6): (s. Abb. 7)

10,60	s, 1H, austauschbar, -CO-N'-OH
8,18	d, 1H, austauschbar, -NH-CO-, ^3J = 9 Hz
7,25 - 7,68	m, 9 ar. H
6,55	s, 1H, -CHCl$_2$
5,70	d, 1H, austauschbar, Ar-C-OH, ^3J = 4 Hz
4,80 - 4,93	m, 2H, 1H austauschbar, Ar-CH-O- und -C^3-OH
3,24 - 4,03	m, 3H, -C^{2}H-C^{3}H$_2$-O-

Massenspektrum: 412/414 (<1, M^+), 394/396 (1/1), 378/380 (<1/<1), 364/366 (<1/1), 348/350 (2/1), 272/274 (1/1), 242 (2), 226 (4), 213 (4), 145 (2), 137 (2), 127 (2), 123 (5), 122 (25), 109 (10), 106 (17), 105 (100), 93 (4), 86 (7), 83 (18), 77 (45), 65 (5), 51 (20).

$C_{18}H_{18}Cl_2N_2O_5$ (413,3)

Ber.	C	52,32	H	4,39	N 6,78
Gef.	C	52,48	H	4,50	N 6,80

35. Isolierung des Gemischs **41** aus der Prüflösung der Identitätsreaktion A für "Chloramphenicolum" nach Ph.Eur.

Nach der 10-minütigen Zinkstaub-Reduktion von **20** (Mengenverhältnisse vgl. Isolierung von **40**) wird der Zinkschlamm abfiltriert und in der noch warmen Lösung 10 g wasserfreies Natriumacetat gelöst. Unter starkem magnetischem Rühren werden dann 4,4 ml Benzoylchlorid zugegeben. Nach 1 Min. läßt man den größten Teil des überschüssigen Säurechlorids absetzen und filtriert möglichst schnell durch ein Papierfilter. Im erkaltenden Filtrat scheidet sich bald ein weißgelbliches Produkt ab, das nach ca. 1 Std. abgesaugt, mit Wasser gewaschen und getrocknet wird.
Umfällung ist aus Ethanol/Ether möglich. Es entsteht ein amorph wirkendes, durch das Mikroskop jedoch kristallin erscheinendes, gelblich-weißes Produkt.

Ausbeute: 15-20%, je nach Temperatur der zu benzoylierenden Lösung

Schmp. (M): 163°C (Rohprodukt)

DC: R_f = 0,7 (FM I)
R_f = 0,27 / 0,37 (FM II)

HPLC: - Probe: 0,5 mg/ml, MP I
- t_R^1 : 6,99 min, Flächenintegral: 50,14 %
- t_R^2 :11,42 min, Flächenintegral: 49,86 %

^{13}C-NMR-Spektrum (DMSO-d_6) des Gemischs **41** :

166,03	C_q	-CO-O-	129,50	C_t	ar
163,44	C_q	-CO-N-	129,08	C_t	ar
163,24	C_q	-CO-N-	128,24	C_t	ar
143,60	C_q	ar	126,93	C_t	ar
138,59	C_q	ar	126,19	C_q	ar
134,60	C_t	ar	125,82	C_t	ar
132,99	C_q	ar	125,72	C_t	ar
131,11	C_t	ar	68,92	C_t	-$\underline{C}HCl_2$

66,40	C_t	Ar-$\underline{C}$H-OH	56,56	C_t	-$\underline{C}^2$H-N-
60,16	C_s	-$\underline{C}^3H_2$-OH	42,45	C_s	-$\underline{C}H_2Cl$

Säulenchromatographische Trennung von **41** :

Säule: Länge 1 m, Ø 3 cm, Füllhöhe 80 cm

Sorbens: Kieselgel 60 MERCK, Korngröße 0,063-0,2 mm

Fließmittel: Aceton / Ethylacetat (10:90)

Nach Waschen der gefüllten Säule mit 300 ml Fließmittel (bis klare Flüssigkeit abtropft) werden 130 mg **41**, aufgezogen auf Kieselgel, aufgestreut und mit Seesand abgedeckt.

Tropfgeschwindigkeit: 36 Tr./Min.

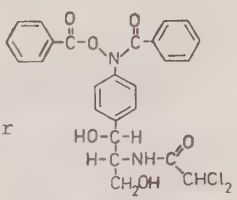
Fraktionen: 180 Fraktionen à 10 ml.

Die dc Aufarbeitung ergibt folgende Trennung:
- Fraktionen 67 - 85: **41a**
- Fraktionen 162 -175: **41b**

Nach Einengen der jeweils vereinigten Fraktionen erhält man:
- 61 mg **41a**
- 35 mg **41b** .

Umkristallisation erfolgt aus Ethanol / Ether.

a) N-Benzoyloxy-N-{4-[2-(2,2-dichloracetylamino)-1,3-dihydroxy-propyl]-phenyl}-benzamid (**41a**)



Schmp. (M): 155-156°C

DC: R_f = 0,37 (FM II)

HPLC: t_R = 7,14 min (MP I); ein Peak mit der lipophileren Komponente von **41** bei Mischinjektion.

IR-Spektrum: 3400 (br), 1770, 1670 (br), 1600, 1580, 1540 (br), 1505, 1450, 1420, 1350 (br), 1180, 1075, 1035, 1015, 930, 915, 840, 810, 780, 705.

^{1}H-NMR-Spektrum (DMSO-d_6): (s. Abb. 9)

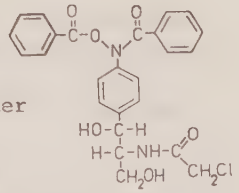
7,28 - 8,19	m, 15 H, 1H austauschbar, 14 ar. H und -NH-CO-	
6,45	s, 1H, $-C\underline{H}Cl_2$	
5,73	d, 1H, austauschbar, Ar-C-O<u>H</u>, ^3J = 5 Hz	
4,78 - 4,94	m, 2H, 1H austauschbar, Ar-C<u>H</u>-O- und $-C^3-O\underline{H}$	
3,31 - 3,95	m, 3H, $-C^2\underline{H}-C^3\underline{H}_2-O-$	

Massenspektrum (CI/CH_4): 517/519 (<1, M^+), 499/501 (<1), 481/483 (<1), 469 (<1), 447 (<1), 413 (<1), 395 (2), 377 (2), 346 (11), 324 (2), 279 (4), 251 (8), 242 (23), 232 (50), 223 (14), 218 (27), 213 (5), 167 (2), 149 (2), 122 (25), 118 (10), 105 (100), 91 (8), 77 (75), 51 (38).

$C_{25}H_{22}Cl_2N_2O_6$ (517,4)

Ber.	C	58,03	H	4,28	N	5,41	Cl	13,71
Gef.	C	58,03	H	4,22	N	5,69	Cl	13,99

b) N-Benzoyloxy-N-{4-[2-(2-chloracetylamino)-1,3-dihydroxy-propyl]-phenyl}-benzamid (**41b**)



Schmp. (M): 163-164°C

DC: R_f = 0,27 (FM II)

HPLC: t_R = 11,54 Min. (MP I); ein Peak mit der hydrophileren Komponente von **41** bei Mischinjektion.

IR-Spektrum: identisch mit IR-Spektrum von **41a**, mit Ausnahme der weniger intensiven Valenzschwingungsbande bei 810 cm^{-1}.

^{1}H-NMR-Spektrum (DMSO-d_6): (s. Abb. 9)

7,31 - 8,08	m, 15 H, 1H austauschbar, 14 ar. H und -NH-CO-	

5,60	d, 1H, austauschbar, Ar-C-O<u>H</u>, ^3J = 5 Hz
4,82 - 4,92	m, 2H, 1H austauschbar, Ar-C<u>H</u>-O- und -C^3-O<u>H</u>
3,95	s, 2H, -C<u>H</u>$_2$Cl
3,10 - 3,90	m, 3H, -C^2<u>H</u>-C^3<u>H</u>$_2$-O-

<u>Massenspektrum (CI/CH$_4$)</u>: kein M^+; 395 (1), 346 (1), 318 (2), 290 (18), 251 (13), 223 (11), 213 (21); ansonsten abbaugleich mit **41a**.

$C_{25}H_{23}ClN_2O_6$ (482,9)

Ber.	C	62,18	H	4,80	N	5,80	Cl	7,34
Gef.	C	62,08	H	4,61	N	5,95	Cl	7,55

36. <u>Verseifung von **41a** zum Identitätsvergleich mit **40** :</u>

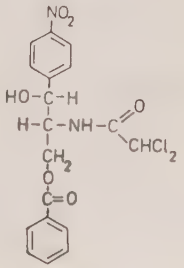
Analog Lit.[54].

100 mg **41a** werden in ca. 50 ml warmem Ethanol gelöst und anschließend ca. 10 Tr. 2N ethanolische NaOH zugegeben. Nach 10 Min. magnetischen Rührens wird die inzwischen leicht gelb gefärbte Lösung auf die Hälfte eingeengt, 100 ml Wasser zugesetzt und mit verd. HCl auf pH 3 angesäuert. Durch dreimaliges Ausschütteln mit je 50 ml Ether erhält man nach dessen Entfernen ein leicht gelbes Öl, das im DC gleiches Laufverhalten wie die isolierte Hydroxamsäure **40** zeigt.

37. <u>2-(2,2-Dichloracetylamino)-3-hydroxy-3-(4-nitrophenyl)-propyl-1-benzoat (**42**)</u>

Darstellung analog Lit.[55]:

Zu 3 g (9 mmol) **20** , gelöst in einer Mischung aus 8 ml Aceton und 1,8 ml Pyridin, wird bei -4°C eine Lösung von 1,4 g Benzoylchlorid in 1,5 ml Aceton innerhalb von 45 Min. zugetropft. Nach etwa der Hälfte der zu-



gegebenen Benzoylchlorid-Menge fällt ein gelblichweißer Niederschlag aus, der nach Beendigung der Reaktion zu einem zähen Brei erstarrt.
Das Produkt wird nach Absaugen und Waschen mit wenig Ether in einer warmen Ethanol-Aceton-Mischung gelöst und in Eiswasser gegossen. Es fällt sofort ein rein weißer Niederschlag aus, der nach Trocknen aus Ethanol umkristallisiert werden kann.

Ausbeute: 2,1 g (55%)

Schmp. (M): 194-195°C Lit.[55]: 187-193°C

DC: R_f = 0,68 (FM I)

IR-Spektrum: 3410, 3300, 3000, 1695, 1670, 1600, 1585, 1545, 1520, 1450, 1395, 1350, 1320, 1300, 1285, 1255, 1200, 1180, 1140, 1130, 1100, 1075, 1025, 1020, 930, 875, 855, 850, 810, 770, 715, 680, 640.

^{1}H-NMR-Spektrum (DMSO-d_6):

8,27 - 8,69	m, 1H, austauschbar, -NH-CO-
7,37 - 8,25	m, 9 ar. H
6,46	s, 1H, -CHCl$_2$
6,27	d, 1H, austauschbar, Ar-C-OH, ^{3}J = 5 Hz
5,13	d, 1H, Ar-CH-O-, ^{3}J = 5 Hz
4,31 - 4,59	m, 3H, -C^{2}H-C^{3}H$_2$-O-

Massenspektrum: 427 (<1, M^+), 409 (<1), 343 (<1), 291 (1), 276 (1), 274 (2), 257 (1), 221 (1), 190 (1), 155 (11), 153 (22), 135 (4), 122 (5), 118 (4), 105 (100), 91 (1), 77 (39), 65 (13), 51 (12).

$C_{18}H_{16}Cl_2N_2O_6$ (427,3)

Ber.	C	50,60	H	3,77	N 6,55
Gef.	C	50,43	H	3,80	N 6,64

38. Isolierung des Gemischs **43** analog der Isolierung von **41**

mit folgenden Mengenverhältnissen:

- 1 g **42** (2 mmol), gelöst in
- 200 ml 25 proz. Ethanol
- 3 g $CaCl_2 \cdot 6H_2O$
- 5 g Zinkstaub
- 5 g Na-acetat, wasserfrei
- 5 ml Benzoylchlorid.

Abfiltrieren des überschüssigen Benzoylchlorids muß hier sehr schnell bei möglichst noch heißer Lösung erfolgen, da **43** sehr früh ausfällt.

Umkristallisation erfolgt 1. aus Ethanol/Isopropanol und
2. aus Ethanol.

Man erhält ein gelblichweißes, durch das Mikroskop kristallin erscheinendes Produkt.

Ausbeute: 80-90 %, je nach Temperatur der zu benzoylierenden Lösung.

Schmp. (L): 177-182°C (Rohprodukt)

DC: R_f = 0,62 (FM I)
R_f = 0,42 / 0,26 (FM III)

^{13}C-NMR-Spektrum (DMSO-d_6) des Gemischs **43**:

165,96	C_q	-CO-O-	129,17	C_t	ar
165,48	C_q	-CO-O-	128,54	C_q	ar
163,57	C_q	-CO-N-	128,53	C_t	ar
163,46	C_q	-CO-N-	128,26	C_t	ar
142,57	C_q	ar	127,12	C_t	ar
138,80	C_q	ar	126,19	C_q	ar
134,61	C_t	ar	125,70	C_t	ar
133,24	C_t	ar	125,63	C_t	ar
132,99	C_q	ar	70,00	C_t	$-\underline{C}HCl_2$
131,12	C_t	ar	66,27	C_t	$-\underline{C}H-OH$
129,53	C_t	ar	64,20	C_s	$-\underline{C}H_2-O-$
129,22	C_t	ar	53,40	C_t	$-\underline{C}^2H-NH-$
			42,31	C_s	$-\underline{C}H_2Cl$

HPLC: - Probe: 0,5 mg / ml; MP II
- t_R^1 = 6,09 Min.; Flächenintegral: 54,86%
- t_R^2 =10,26 Min.; Flächenintegral: 42,14%

Säulenchromatographische Trennung des Gemischs **43** :

Säule: Länge: 70 cm, Ø 4 cm, Füllhöhe 60 cm

Sorbens: Kieselgel 60 MERCK, Korngröße 0,063-0,2 mm

Fließmittel: Methylenchlorid / Ether (80:30)

Nach Waschen der gefüllten Säule mit 150 ml Fließmittel werden 300 mg **43** in 20 ml Methylenchlorid suspendiert und nach Zugabe von etwas Kieselgel wieder vom Lösungsmittel befreit und getrocknet. Die dadurch fein verteilte Substanz wird auf die Säule gestreut und mit Seesand abgedeckt.

Tropfgeschwindigkeit: 36 Tr./Min.

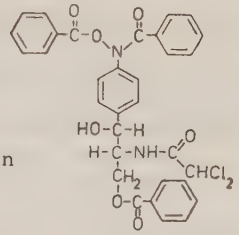
Fraktionen: 140 Fraktionen à 10 ml
Von Zeit zu Zeit empfiehlt es sich, die Abtropfspitze mit wenig Methylenchlorid abzuspülen, da das Fließmittel schnell verdampft und Reste der getrennten Verbindungen hinterlassen kann.
Die dc Aufarbeitung ergibt folgende Trennung:

- Fraktionen 65 - 80 : **43a**
- Fraktionen 90 - 130 : **43b**

Nach Einengen der jeweils vereinigten Fraktionen auf wenige ml tritt eine Trübung auf. Durch Kühlen unter 0°C kann Kristallisation erzielt werden. Bei **43b** müssen zusätzlich einige Tropfen Ether zugesetzt werden.
Man erhält nach Umkristallisation aus Ethanol

- 96 mg **43a**
- 73 mg **43b**.

a) 3-[4-(N-Benzoyl-N-benzoyloxy-amino)-phenyl]-2-(2,2-dichlor-acetylamino)-3-hydroxy-propyl-1-benzoat (**43a**)



Schmp. (M): 182-183°C (Z)

DC: R_f = 0,42 (FM III)

HPLC: t_R = 6,06 Min. (MP II); ein Peak mit der lipophileren Komponente von **43** bei Mischinjektion

IR-Spektrum: 3450 (br), 3320 (br), 3060, 1770, 1725, 1685, 1660, 1600, 1585, 1525, 1510, 1490, 1450, 1425, 1350 (br), 1320, 1280, 1240, 1180, 1115, 1070, 1040H, 1015, 920, 810, 710.

^{1}H-NMR-Spektrum (DMSO-d_6): (s. Abb. 10)

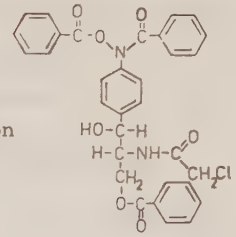
8,43 - 8,56	breites Signal, 1H, austauschbar, -NH-CO-
7,26 - 8,07	m, 19 ar. H
6,43	s, 1H, $-CHCl_2$
6,01	d, 1H, austauschbar, Ar-C-OH, ^3J = 5 Hz
4,96	m, 1H, Ar-CH-O-,
4,22 - 4,51	m, 3H, $-C^2H-CH_2-O-$

Massenspektrum (CI/CH_4): 621/623 (<1, M^+), 603/605 (1), 586/588 (1), 499/501 (3), 481/482 (6), 475 (7), 458 (2), 448 (3), 381 (1), 373 (4), 359/361 (9), 324 (2), 305 (1), 286 (1), 277 (2), 247 (3), 223 (18), 209 (10), 155 (8), 118 (1), 105 (100), 77 (52), 65 (21), 51 (19).

$C_{32}H_{26}Cl_2N_2O_7$ (621,5)

Ber.	C	61,84	H	4,22	N	4,51	Cl	11,41
Gef.	C	61,97	H	4,21	N	4,33	Cl	11,33

b) 3-[4-(N-Benzoyl-N-benzoyloxy-amino)-phenyl]-2-(2-chloracetyl-amino)-3-hydroxy-propyl-1-benzoat (**43b**)



Schmp. (M): 173-174°C (Z)

DC: R_f = 0,26 (FM III)

HPLC: t_R = 10,34 Min. (MP II); ein Peak mit der hydrophileren Komponente von **43** bei Mischinjektion.

IR-Spektrum: identisch mit IR-Spektrum von **43a**, mit Ausnahme der fehlenden Valenzschwingungsbande bei 810 cm^{-1}.

^{1}H-NMR-Spektrum (DMSO-d_6): (s. Abb. 10)

7,32 - 8,17	m, 20H, 1H austauschbar, 19 ar. H und -NH-CO-
5,91	d, 1H, austauschbar, Ar-C-OH, ^3J = 5 Hz
4,87 - 4,95	m, 1H, Ar-CH-O-
4,24 - 4,45	m, 3H, -C^2H-CH_2-O-
3,95	s, 2H, -CH_2Cl

Massenspektrum (CI/CH_4): kein M^+; 448 (1), 429 (2), 343 (1), 324 (3), 291 (2), 245 (20), 228 (11), 213 (23), 209 (9), 155 (13), 121 (21), 105 (100), 77 (62), 65 (15), 51 (31).

$C_{32}H_{27}ClN_2O_7$ (587,0)

Ber.	C	65,47	H	4,64	N	4,77	Cl	6,04
Gef.	C	65,40	H	4,60	N	4,81	Cl	5,87

39. Unabhängige Darstellung von **43a**

In Anlehnung an Lit.[54].

Ansatz wie bei der Isolierung von **40**. Nach Absaugen des Zinkschlamms wird auf ca. 300 ml eingeengt und anschließend dreimal mit 100 ml Ethylacetat extrahiert. Die nicht

eingeengten organischen Phasen werden auf -5°C gekühlt und nach Zusatz von 10 ml Pyridin 7 ml Benzoylchlorid langsam zugetropft. An der Eintropfstelle tritt bald Trübung ein. Nach Beendigung des Zutropfens hat sich ein orangebraunes Öl in der ansonsten gelben Lösung abgeschieden.
Der gesamte Benzoylierungsansatz wird auf ca. 10-20 ml eingeengt und das zurückbleibende Öl anschließend mit einigen ml 2 proz. H_2SO_4 versetzt. Es fällt sofort ein weißgelblicher Niederschlag aus, der nach Absaugen zunächst mit wenig Ethanol, danach mit wenig Ether gewaschen und aus einem Gemisch von Ethanol und Aceton umgefällt wird.

Schmp. (M): 182°C (Z), Mischschmp.(M) mit **43a**: 181-182°C

DC: 0,4 (FM III); eine Zone bei Mischauftragung mit **43a**.

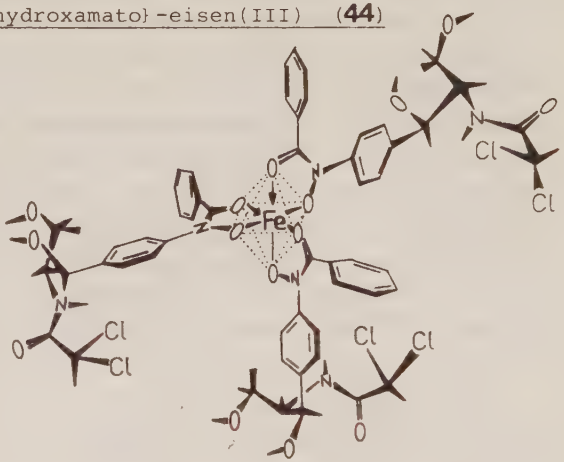
HPLC: t_R = 6,14 Min. (MP II); ein Peak bei Mischinjektion mit **43a**.

IR-Spektrum, ^{1}H-NMR-Spektrum sowie Massenspektrum (CI/CH_4) waren identisch mit den Spektren von **43a**.

$C_{32}H_{26}Cl_2N_2O_7$ (621,5)

Ber.	C	61,84	H	4,22	N	4,51	Cl	11,41
Gef.	C	61,56	H	4,38	N	4,31	Cl	11,32

40. Tris-{N-4-[2-(2,2-dichloracetylamino)-1,3-dihydroxy-propyl]-phenyl-benzhydroxamato}-eisen(III) (**44**)



Ansatz wie bei Isolierung von **40** . Die weitgehend Benzoesäure-freien Ausschüttel-Fraktionen, die durch Extraktion der benzoylierten Lösung erhalten werden, werden auf ca. 200 ml eingeengt und mit ca. 100 ml Wasser unterschichtet. Nach Zugabe von 5 ml 10 proz. Eisen(III)-chlorid-Lösung wird kräftig geschüttelt, wobei sich die wäßrige Phase tiefviolett färbt. Nach einmaliger Wiederholung wird zu den vereinigten wäßrigen Phasen langsam eine 10 proz. $NaHCO_3$-Lösung gegeben, wobei die Eisen-Hydroxamat-Lösung bald eine rotbraune Farbe annimmt und Ausfällung eines flockigen Produkts auftritt. Nachdem die Lösung einen pH von 6-7 erreicht hat, wird 10 Min. lang stark magnetisch gerührt und anschließend das stark porenverstopfende Produkt über ein Papierfilter abfiltriert. Nach Trocknen im Trockenschrank bei 40-50°C und anschließend im Vakuumexsikkator wird das amorph-pulvrige Produkt unter Rühren in siedendes Wasser gegeben, wobei etwa die Hälfte in Lösung geht. Der Rest klumpt zu einer violettschwarzen, teerartigen Masse zusammen und kann so durch Dekantieren abgetrennt werden. Nach Trocknen der Substanz wird der Vorgang wiederholt, wobei diesmal einige ml Ethanol zugesetzt werden. Wieder bleibt eine teerartige Masse zurück, die mit verd. Ethanol gewaschen wird und anschließend über P_2O_5 im Vakuum scharf getrocknet wird.

Man erhält hygroskopische, violettschwarz glänzende Kristall-

plättchen, aus denen nach Lösen in Ethanol und Versetzen mit Na-EDTA-Lösung die freie Hydroxamsäure **40** wieder mit Ether extrahiert werden kann.

Schmp. (L): 170°C (Z ab 140°C)

DC: R_f = 0,33 (FM I); starkes tailing

IR-Spektrum: 3400 (br), 1685 (br), 1590, 1525, 1445, 1410, 1155, 1110, 1075, 1030, 1015, 940, 850, 810, 780, 700, 675.

UV-Spektrum: λ_{max} = 510 nm (pH 1);

$$\varepsilon = 1950 \ \frac{\text{Liter}}{\text{Mol} \cdot \text{cm}} \ ; \ c = 17{,}5 \text{ mg /100 ml}$$

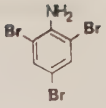
Absorptionsmaximum pH-abhängig (vgl. 3.1.1. bzw. Tab. 2 im Theoretischen Teil).

Das Eisenchelat **44** ließ die Aufnahme von NMR-Spektren sowie Massenspektren nicht zu (vgl. 3.2. im Theoretischen Teil).

$C_{54}H_{51}Cl_6FeN_6O_{15}$ (1292,6)

Ber.	C	50,18	H	3,98	N 6,50
Gef.	C	49,92	H	4,27	N 6,43

41. 2,4,6-Tribromanilin (**45**)



Darstellung nach AWE und STOHLMANN[5].

3 g (30 mmol) frisch destilliertes Anilin werden in einer Mischung von 200 ml Wasser und 25 ml 10 proz. HCl gelöst und mit Bromwasser im Überschuß versetzt. Es fällt sofort ein graugrüner, sich zusammenballender Niederschlag aus, der abfiltriert und mit Wasser gewaschen wird. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus verd. Ethanol werden lange, weiße Nadeln erhalten, die einen violetten Schimmer aufweisen.

Ausbeute: 6,2 g (62%)

Schmp. (M): 118-119°C Lit.[5]: 119°C

DC: R_f = 0,8 (FM I)

IR-Spektrum: 3420, 3300, 3080, 1620, 1560, 1540, 1455, 1380, 1290, 1070, 860, 845, 735, 710, 675.

^{1}H-NMR-Spektrum (DMSO-d_6):

7,48	s, 2 ar. H
4,5	s, 2H, austauschbar, $-NH_2$

Massenspektrum: 333/331/329/327 (15/40/44/15), 252/250/248 (15/33/15), 225/223/221 (4/9/4), 171/170/169/168 (33/71/33/73), 143/141 (22/22), 125 (20), 90 (88), 85 (49), 62 (100), 53 (38).

$C_6H_4Br_3N$ (329,8)

Ber.	C	21,85	H	1,22	N 4,25
Gef.	C	21,95	H	1,19	N 4,45

Umsetzung von 4-Nitrobenzylalkohol (**6**) analog der Vorschrift von AWE und STOHLMANN[5] für Chloramphenicol

0,5 g (3 mmol) **6** werden in 40 ml Ethanol p.a. gelöst und anschließend mit 160 ml Wasser verdünnt. Nach Zusatz von 4 g Zinkstaub wird 10 Min. im Wasserbad erhitzt und danach dem noch warmen Filtrat 1 ml 6N-HCl sowie 0,8 g $KBrO_3$, gelöst in 20 ml Wasser, und 2,5 g KBr zugesetzt. Nach vorübergehender Grünfärbung fällt eine grauweiße Substanz aus. Durch zweimaliges Umkristallisieren aus verd. Ethanol werden lange, violett-weiße Kristallnadeln erhalten.

Ausbeute: 0,73 g (74%)

Schmp. (M): 118°C

Misch-Schmp. mit authentischem **45** : 117-118°C

IR-Spektrum: ist identisch mit der unabhängig dargestellten Verbindung **45** .

Nachweis des entstandenen Formaldehyds

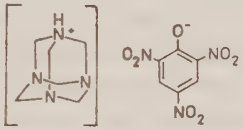
Die vom ausgefallenen **45** befreite Ansatzlösung wird einer Wasserdampfdestillation unterworfen, wobei ca. 150 ml Destillat aufgefangen werden.
Aus diesem kann Formaldehyd folgendermaßen nachgewiesen werden:

1. Anhaltende Blau-violett-Färbung mit Chromotropsäure-Lösung[72],
2. Rotviolett-Färbung mit Guajakol im Schwefelsauren[73],
3. Rotfärbung mit Phenylhydrazin und Hexacyanoferrat(III) nach FRIESE und RICHTSTEIGER[74].
4. Ca. 10 ml des Wasserdampf-Destillats werden nach Zusatz von einigen Tr. konz. NH_3-Lösung zur Trockne eingedampft. Es bleibt eine schmutzig-weiße Substanz zurück, die in wenig Ethanol p.a. aufgenommen und mit einigen

Tr. ethanolischer Pikrinsäure-Lösung versetzt wird. Es entsteht sofort ein gelber Niederschlag von Methenamin-Monopikrat.

Schmp. (M): 181°C Lit.[75]: 182-186°C

Misch-Schmp. mit authentischer Vergleichssubstanz: 180°C



Auf gleiche Weise wurde die authentische Substanz aus Methenamin (**48**) und Pikrinsäure dargestellt.
Schmp. (M): 180-181°C

IR-Spektrum: 3100-2500 (br), 1630 (br), 1560, 1480, 1435, 1405, 1365, 1335, 1290, 1210, 1160, 1080, 1060, 1025, 1010, 980, 935, 910, 875, 820, 800, 750, 710, 660.

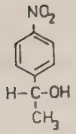
Das Spektrum ist identisch mit dem aus dem Prüfansatz dargestellten Pikrat von **48**.

Bei analog durchgeführten Blindversuchen, bei denen
a) der reduzierte Alkohol **7** ohne Bromierung und
b) die Nitroverbindung **6** nach Brombehandlung
der Wasserdampf- Destillation unterworfen wurde, fielen alle Nachweise auf Formaldehyd negativ aus.
Weder aus dem Prüfansatz noch aus der Blindprobe konnte ein Nachweis auf Ameisensäure nach DAB 7[95] geführt werden.
Der pH des Wasserdampf-Destillats betrug ca. 6-7, während geringste Mengen Ameisensäure bereits einen pH-Sprung nach pH 3-4 verursacht hätten.

---

95) Deutsches Arzneibuch, 7.Ausgabe 1968, S.313

42. 1-(4-Nitrophenyl)-ethanol (**46**)



Darstellung aus 4-Nitroacetophenon (**49**) durch Reduktion mit $NaBH_4$:
10 g (60 mmol) **49** , gelöst in 250 ml Ethanol, werden langsam unter Rühren zu einer Lösung von 1,5 g $NaBH_4$ in 100 ml Ethanol getropft. Ca. 20 Min. nach Beendigung der Zugabe zeigt ein DC bereits vollständige Umsetzung an.
Zur Zerstörung überschüssigen Borhydrids wird die Lösung mit verd. HCl versetzt. Nach Beendigung der heftigen Gasentwicklung werden die ausgefallenen Salze abgetrennt und die ethanolische Lösung eingeengt. Es bleibt ein gelbes, viskoses Öl zurück, das durch Destillation gereinigt wird.

Sdp.$_{15}$: 193°C Lit.[76]: Sdp.$_4$: 161-163°C

n_D^{21}: 1,5601 Lit.[76]: n_D^{20}: 1,5621

DC: R_f = 0,62 (FM I)

IR-Spektrum ($CHCl_3$): 3600, 3400 (br), 2980, 1605, 1515, 1450, 1350, 1310, 1290, 1110, 1090, 1010, 900, 855.

^{1}H-NMR-Spektrum (DMSO-d_6):

8,2 / 7,65	AA'BB', 4 ar. H
5,5	d, 1H, austauschbar, Ar-C-OH, ^3J = 4 Hz
4,65 - 5,15	m, 1H, Ar-CH-
1,4	d, 3H, $-CH_3$, ^3J = 6 Hz

Massenspektrum: 167 (2, M^+), 152 (100), 122 (15), 107 (71), 95 (33), 77 (82), 67 (13), 51 (33).

$C_8H_9NO_3$ (167,2)

Ber.	C	57,48	H	5,43	N 8,38
Gef.	C	57,29	H	5,45	N 8,47

Umsetzung von **46** analog der Vorschrift von AWE und STOHLMANN[5] für Chloramphenicol

0,5 g (3 mmol) **46** werden in 40 ml Methanol p.a. gelöst und mit 160 ml Wasser verdünnt. Nach Zusatz von 4 g Zinkstaub wird 10 Min. auf dem Wasserbad erhitzt und anschließend der Zinkschlamm abgesaugt. Dem noch warmen Filtrat werden nacheinander 0,8 g $KBrO_3$, gelöst in 20 ml Wasser, 2,5 g KBr und 1 ml 6N-HCl zugesetzt. Nach vorübergehender Grünfärbung fällt ein graugrüner, sich zusammenballender Niederschlag aus, der nach Abfiltrieren und Waschen mit Wasser aus verd. Ethanol umkristallisiert wird.

Ausbeute: 0,79 g (71%)

Schmp. (M): 118°C

Misch-Schmp. mit authentischem **45**: 117-118°C

IR-Spektrum ist identisch mit unabhängig dargestelltem **45**.

Nachweis des entstandenen Acetaldehyds

erfolgt aus dem nach Abtrennen des ausgefallenen **45** erhaltenen Filtrat

1. gemäß SIMON-AWE[77,78]: Ein mit Natriumpentacyanonitrosylferrat(II) getränktes Filterpapier, das über die zu prüfende Lösung gehalten wird, zeigt beim Betupfen mit Piperidin eine starke Blaufärbung, die auf Zusatz von verd. NaOH nach Rosa umschlägt,
2. durch Bildung des Acetaldehyd-2,4-Dinitrophenylhydrazons[96].

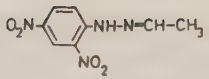
   Schmp. (M): 163°C Lit.[96]: 164°C

   Misch-Schmp. mit authentischer, aus Acetaldehyd und

---

96) Organikum, 15.Aufl., S.484 und 757, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin 1976

2,4-Dinitrophenylhydrazin dargestellter Verbindung: 162-163°C



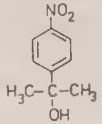
IR-Spektrum: 3300, 3110, 3100, 1620 (br), 1595, 1510 (br), 1420, 1370, 1340 (br), 1310, 1270, 1150, 1075, 1050, 930, 920, 840, 830, 750, 725.

Das IR-Spektrum ist identisch mit dem der authentischen Verbindung.

Ein auf gleiche Weise durchgeführter Blindversuch ohne Bromierung des reduzierten Alkohols **46** zeigte weder eine positive Reaktion nach SIMON-AWE noch konnte ein Dinitrophenylhydrazon dargestellt werden.

Aus dem Prüfansatz konnte jedoch neben Acetaldehyd auch Essigsäure mit Lanthannitrat[79] nachgewiesen werden.

43. 2-(4-Nitrophenyl)-propan-2-ol (**47**)



Darstellung analog Lit.[81]:
Zu einer Lösung von 30 g 4-Nitrocumol (**50**) in 120 ml Acetanhydrid und 100 ml Eisessig werden 15 g CrO_3 portionsweise, über 3 Std. verteilt, unter Rühren zugegeben, wobei eine Temperatur von 23-30°C eingehalten wird. Die dunkelgrün gefärbte Lösung wird anschließend auf 650 g Eisflocken gegossen und unter heftigem Rühren mit ca. 30 g $NaHCO_3$ neutralisiert. Nach Stehen über Nacht wird die Lösung dreimal mit 200 ml Ether extrahiert, die Etherphasen mit Wasser und $NaHCO_3$-Lösung gewaschen und schließlich über K_2CO_3 getrocknet. Nach Abziehen des Ethers bleibt ein gelbes Öl zurück, das im DC neben dem gewünschten Produkt noch Ausgangssubstanz **47** sowie 4-Nitroacetophenon (**49**) aufweist.
4-Nitrocumol kann durch Destillation über eine Vigreux-Kolonne im Vorlauf abgetrennt werden. Die Abtrennung von **49** erfolgt - da destillativ nicht möglich - mit Hilfe von GIRARD-Reagens T[82]. Dazu werden 15 g des öligen Gemischs

in 25 ml Methanol gelöst und nach Zugabe von 2,5 g GIRARD-Reagens T eine Std. am Rückfluß erhitzt. Anschließend wird der Ansatz in Eiswasser gegossen und dreimal ausgeethert. Danach ist **49** dc nicht mehr nachzuweisen. Spuren von lipophileren Nebenprodukten können durch mehrmaliges Ausschütteln des nach Abziehen des Ethers erhaltenen Öls mit Petrolether 60°/80° entfernt werden. Nach Vakuumdestillation bleibt schließlich ein hellgelbes, viskoses Öl zurück.

$Sdp._{2,5}$: 130°C Lit.[81]: $Sdp._{2}$: 120,5-121°C

n_D^{19}: 1,5570 Lit.[81]: $n_D^{19,2}$: 1,5552

DC: R_f = 0,57 (FM I)

IR-Spektrum ($CHCl_3$): 3600, 3400 (br), 2980, 2940, 1605, 1520 (br), 1465, 1410, 1350 (br), 1255, 1175, 1110, 1090, 1015, 960, 870, 860, 850.

^{1}H-NMR-Spektrum ($CDCl_3$):

8,2 / 7,75	AA'BB', 4 ar. H
2,2	s, 1H, austauschbar, Ar-C-OH
1,6	s, 6H, 2 $-CH_3$

Massenspektrum: 181 (1, M^+), 176 (7), 163 (6), 150 (2), 133(2), 121 (9), 115 (8), 105 (17), 91 (10), 77 (14), 59 (11), 43 (100).

$C_9H_{11}NO_3$ (181,2)

Ber.	C	59,66	H	6,12	N 7,73
Gef.	C	59,43	H	6,16	N 7,93

Umsetzung von **47** analog der Vorschrift von AWE und STOHLMANN[5] für Chloramphenicol

0,54 g (3 mmol) **47** werden in 40 ml Acetonitril p.a. gelöst und mit 160 ml Wasser verdünnt. Nach Zusatz von 4 g Zinkstaub wird 10 Min. auf dem Wasserbad erhitzt und anschließend der Zinkschlamm abgesaugt. Dem noch warmen Filtrat werden nacheinander 0,8 g $KBrO_3$, gelöst in 20 ml Wasser, 2,5 g KBr und 1 ml 6N-HCl zugesetzt. Nach vorübergehender Grünfärbung fällt ein graugrüner, sich zusammenballender Niederschlag aus, der nach Abfiltrieren und Waschen mit Wasser aus verd. Ethanol umkristallisiert wird.

Ausbeute: 0,63 g (64%)

Schmp. (M): 117°C

Misch-Schmp. mit authentischem **45**: 117°C

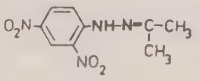
IR-Spektrum ist identisch mit unabhängig dargestelltem **45**.

Nachweis von entstandenem Aceton

Nach Bromierung des reduzierten **47** wird vom ausgefallenen **45** abfiltriert und das Filtrat destilliert, bis ca. 70 ml Destillat aufgefangen sind.
Nach Zerstörung von Bromspuren mit Na-Dithionit wird anschließend unter Rühren 2,4-Dinitrophenylhydrazin-Lösung im Überschuß zugesetzt. Es fällt bald ein dunkelorangegelbes Produkt aus.

Schmp. (M): 125-126°C Lit.[97]: 126°C

Misch-Schmp. mit authentischer, aus Aceton und 2,4-Dinitrophenylhydrazin dargestellter Verbindung: 125°C



97) Organikum, 15.Aufl., S.773, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin 1976

IR-Spektrum: 3320, 3100, 1620 (br), 1590, 1510 (br), 1425, 1360, 1330, 1310, 1285, 1250, 1220, 1140, 1100, 1060, 1030, 920, 840, 835, 750, 725.

Das IR-Spektrum ist identisch mit dem der authentischen Verbindung.

Ein auf gleiche Weise durchgeführter Blindversuch ohne Bromierung des reduzierten Alkohols **47** ergab keine Ausfällung mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin.

Quantitativer Nachweis des entstandenen Acetons

Gleicher Ansatz wie zum qualitativen Nachweis, wobei hier jedoch 0,5 g **47** genau in einen Jodzahlkolben eingewogen und nach Zinkstaub-Behandlung im verschlossenen Kolben wie zuvor beschrieben bromiert werden. Der gesamte Ansatz wird sofort - ohne Entfernen des ausgefallenen **45** - einer Destillation in geschlossener Apparatur unterworfen und ca. 50 ml Destillat aufgefangen. Geringe Mengen mitübergegangenen Broms lassen sich durch Zugabe von wenig Na-Dithionit bis zur Entfärbung entfernen. Danach kann das enthaltene Aceton durch Zusatz von 2,4-Dinitrophenylhydrazin im Überschuß als Hydrazon ausgefällt und nach Waschen mit Wasser und Trocknen gravimetrisch bestimmt werden.

Auswaage theoretsich: 656 mg Hydrazon (≙ 159,9 mg Aceton)

Auswaage praktisch : 331 mg Hydrazon (≙ 80,7 mg bzw. 50,5%)

Ein Blindversuch, bei dem reines, genau gewogenes Aceton als 2,4-Dinitrophenylhydrazon gravimetrisch bestimmt wurde, ergab eine Wiederfindungsrate von 94,5 %. Dieses Ergebnis zugrundegelegt, erhöht sich die gefundene Menge an Aceton auf 53,4 %.

Umsetzung von Chloramphenicol nach AWE und STOHLMANN[5)]

1 g (3 mmol) Chloramphenicol (**20**) werden in 40 ml Acetonitril p.a. gelöst und mit 160 ml Wasser verdünnt. Nach Zusatz von 4 g Zinkstaub wird 10 Min. auf dem Wasserbad erhitzt und anschließend der Zinkschlamm abgesaugt. Dem noch warmen Filtrat werden nacheinander 0,8 g $KBrO_3$, gelöst in 20 ml Wasser, 2,5 g KBr und 1 ml 6N-HCl zugesetzt. Nach vorübergehender Grünfärbung fällt ein graugrüner, sich zusammenballender Niederschlag aus, der nach Abfiltrieren und Waschen mit Wasser aus verd. Ethanol umkristallisiert wird.

Ausbeute: 0,77 g (77,7%)

Schmp. 117-118°C

Misch-Schmp. mit authentischem **45**: 117°C

IR-Spektrum ist identisch mit unabhängig dargestelltem **45**.

LITERATURVERZEICHNIS

1) MULLIKEN, Identification of Pure Organic Compounds, Vol. II, S.30, John Wiley & Sons, New York 1916

2) D.DAVIDSON, J. Chem. Educ. 17, 81 (1940)

3) Europäisches Arzneibuch, Bd. II, S.172 (1976)

4) A.BEINROTH, Dissertation Tübingen 1980

5) W.AWE und H.STOHLMANN, Arch. Pharm. (Weinheim) 289, 387 (1956)

6) F.HABER und C.SCHMIDT, Z. Physik. Chem. 32, 271 (1900)

7) HOUBEN-WEYL, Methoden der organischen Chemie, Bd. 10/1, 4. Aufl., S.1138, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1971

8) A.WOHL, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 27, 1432 (1894)

9) E.BAMBERGER, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 27, 1548 (1894)

10) HOUBEN-WEYL, Methoden der organischen Chemie, Bd. 10/3, 4.Aufl., S.346 f. und S.755 f., Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1965

11) E.BAMBERGER, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 33, 113 (1900)

12) K.BRAND und J.MAHR, J. Prakt. Chem. (2), 131, 97 (1931)

13) G.A.SNOW, J. Chem. Soc. 1954, 2588

14) M.A.T.ROGERS, J. Chem. Soc. 1955, 769

15) A.W.NINEHAM, Chem. Rev. 55, 355 u. 422 (1955)

16) HOUBEN-WEYL, Methoden der organischen Chemie, Bd.10/1, 4.Aufl., S.1143 ff., Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1971

17) E.BAMBERGER und A.RISING, Justus Liebigs Ann. Chem. 316, 280 (1901)

18) E.BAMBERGER, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 33, 941 (1900)

19) H.W.GALBRAITH, E.F.DEGERING und E.F.HITCH, J. Am. Chem. Soc. 73, 1323 (1951)

20) S.M.METHA und M.V.VAKILWALA, J. Am. Chem. Soc. 74, 563 (1952)

21) KALLE & Co., D.R.P. 87972 (21. Sept. 1895); C. 67, 1048 (1896)

22) E.BAMBERGER, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 36, 836 (1903)

23) R.O.HUTCHINS, D.W.LAWSON, L.RUA, C.MILEWSKI und B.MARYANOFF, J.Org. Chem. 36, 803 (1971)

24) HOUBEN-WEYL, Methoden der organischen Chemie, Bd.5/4, 4.Aufl., S.720 f., Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1960

25) P.V.McKIE, J. Chem. Soc. 123, 2214 (1923)

26) A.F.CASY, PMR-Spectroscopy in Medical and Biological Chemistry, S.256, Academic Press, London 1971

27) M.KRAFT, Struktur- und Absorptionsspektroskopie organischer Naturstoffe, S.302 f., D.Steinkopff-Verlag, Darmstadt 1976

28) F.ZYMALKOWSKI, Katalytische Hydrierungen, S.157 f., Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart 1965

29) P.N.RYLANDER, Catalytic Hydrogenation in Organic Synthesis, Academic Press, New York City 1979

30) HOUBEN-WEYL, Methoden der organischen Chemie, Bd.10/3, 4.Aufl., S.332, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1965

31) J.KNABE und R.KRÄUTER, Arch. Pharm. (Weinheim) 296, 204 (1963)

32) S.PATAI, The Chemistry of the Hydrazo-, Azo- and Azoxy-Group, S.615, John Wiley & Sons, New York 1975

33) E.C.BLOSSEY und A.CORLEY, J. Chem. Soc. Chem. Commun. 1972, 895

34) P.RUGGLI und G.BARTUSCH, Helv. Chim. Acta 27, 1397 (1944)

35) L.MALAPRADE, Bull. Soc. Chim. Fr. 1928, 638

36) B.SKLARZ, Quart. Rev. 21, 3 (1967)

37) P.FLEURY, J.COURTOIS und M.GRANDCHAMP, Bull. Soc. Chim. Fr. 1949, 88

38) M.C.REBSTOCK, H.M.CROOKS, Jr., J.CONTROULIS und Q.R.BARTZ, J. Am. Chem. Soc. 71, 2460 (1949)

39) A.KIRPAL, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 30, 1598 (1897)

40) A.KLEEMANN, Pharmazeutische Wirkstoffe, S.84, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1978

41) PARKE DAVIS & Co (Erf. A.C.MOORE), US-Pat. 2.568.555 (18. Sept. 1951); C.A. 46, 3574e (1951)

42) BOEHRINGER MANNHEIM (Erf. O.ONNEN, W.PESCHKE und E.RABALD), D.B.P. 870857 (3.Mai 1951)

43) BOEHRINGER MANNHEIM, Engl. Pat. 707193 (14. April 1954); C.A. 49, 10384d (1954)

44) H.YALE, Chem. Rev. 33, 209 (1943)

45) L.BAUER und O.EXNER, Angew. Chem. 86, 419 (1974)

46) HOUBEN-WEYL, Methoden der organischen Chemie, Bd. 8, 4.Aufl., S.684 f., Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1952

47) HOUBEN-WEYL, Methoden der organischen Chemie, Bd.10/4, 4.Aufl., S.193, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1968

48) G.ZINNER und E.KETZ, Pharm. Ztg. 121, 910 (1976)

49) S.G.TANDON und S.C.BHATTACHARYYA, J. Chem. Eng. Data 7, 553 (1962)

50) R.NEU, Chem. Ber. 87, 802 (1954)

51) K.KOBASCH, N.TERASHIMA und J.HASE, Chem. Pharm. Bull. 21, 2303 (1973)

52) O.NEUNHOEFFER und R.GOTTSCHLICH, Justus Liebigs Ann. Chem. 736, 105 (1970)

53) G.ZINNER und M.HITZE, Arch. Pharm. (Weinheim) 302, 788 (1969)

54) W.O.LUKASCHEWITSCH, Justus Liebigs Ann. Chem. 521, 198 (1936)

55) V.KVITA, Pharm. Zentralhalle Dtschl. 107, 193 (1968)

56) S.PATAI, The Chemistry of the Hydroxyl Group, S.1033, Academic Press, New York City 1971

57) Organikum, 15.Aufl., S.505, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin 1977

58) HOUBEN-WEYL, Methoden der organischen Chemie, Bd.11/2, 4.Aufl., S.11, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1958

59) F.COTTON und G.WILKINSON, Anorganische Chemie, 3.Aufl., S.921, Verlag Chemie, Weinheim 1974

60) Deutsches Arzneibuch, 7.Ausgabe 1968, S.519

61) F.HEIN, Chemie der Komplexverbindungen, S.232, S.Hirzel Verlag, Leipzig 1971

62) Deutsches Arzneibuch, 7.Ausgabe 1968, S.765

63) Europäisches Arzneibuch Bd. III, S.205

64) Europäisches Arzneibuch Bd. I, S.117

65) G.SCHWARZENBACH, Helv. Chim. Acta 34, 576 (1951)

66) A.K.MAJUMDAR, N-Benzoylphenylhydroxylamine and Its Analogues, Pergamon Press, Oxford 1972

67) H.J.KELLER, NMR-Untersuchungen an Komplexverbindungen, aus der Reihe: NMR - Grundlagen und Fortschritte (Hrsg. P.DIEHL, E.FINCK und R.KOSFELD), Vol.2, S.53, Springer Verlag, Berlin 1970

68) E.BAMBERGER, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 27, 1347 und 1548 (1894)

69) E.BAMBERGER, Justus Liebigs Ann. Chem. 424, 297 (1921)

70) E.BAMBERGER, ibid. 441, 297 (1925)

71) E.D.HUGHES und C.K.INGOLD, Quart. Rev. 6, 45 (1952)

72) Deutsches Arzneibuch, 8.Ausgabe 1978, S.237

73) Pharmacopoea Helvetica, Editio Sexta 1971, Bd. III, S.493

74) W.FRIESE und F.RICHTSTEIGER, Pharm. Zentralhalle Dtschl. 81, 83 (1940)

75) Pharmacopoea Nordica, Monographie Formaldehyd

76) A.H.FORD-MOORE und H.N.RYDON, J. Chem. Soc. 1946, 680

77) Deutsches Arzneibuch, 8.Ausgabe 1978, S.99

78) W.AWE und F.DEMELIUS, Pharm. Zentralhalle Dtschl. 90, 73 (1951)

79) Europäisches Arzneibuch Bd.II, S.87 (1974)

80) M.S.KHARASCH und O.REINMUTH, Grignard Reactions of Nonmetallic Substances, S.1237, Prentice Hall Inc., New York 1954

81) H.KWART und P.S.FRANCIS, J. Am. Chem. Soc. 77, 4907 (1955)

82) A.GIRARD und G.SANDULESCO, Helv. Chim. Acta 19, 1095 (1936)

83) J.B.SHOESMITH und W.E.TAYLOR, J. Chem. Soc. 129, 2834 (1926)

84) J.v.BRAUN, F.JONES und W.MÜNCH, Justus Liebigs Ann. Chem. 453, 143 (1927)

85) A.DORNOW und G.WINTER, Chem. Ber. 84, 307 (1951)

86) C.A.BUEHLER und C.A.MACKENZIE, J. Am. Chem. Soc. 59, 421 (1937)

87) J.v.BRAUN und W.MÜNCH, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 60, 351 (1927)

88) O.C.DERNER und J.KING, J. Org. Chem. 8, 168 (1943)

89) W.H.CAROTHERS und G.A.JONES, J. Am. Chem. Soc. 47, 3057 (1925)

90) L.BERLINGUET, Can. J. Chem. 32, 31 (1954)

91) M.C.REBSTOCK, G.W.MOERSCH, A.C.MOORE und J.M.VANDENBELT, J. Am. Chem. Soc. 73, 3666 (1951)

92) G.BARGER und G.S.WALPOLE, J. Chem. Soc. 95, 1722 (1909)

93) T.JOHNSON und H.GUEST, Am. Chem. J. 43, 314 (1910)

94) F.J.ALWAY und W.D.BONNER, J. Am. Chem. Soc. 27, 1119 (1905)

95) Deutsches Arzneibuch, 7.Ausgabe 1968, S.313

96) Organikum, 15.Aufl., S.484 und S.757, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin 1976

97) Organikum, 15.Aufl., S.773, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin 1976

LEBENSLAUF

GEBURTSDATUM:	23. Juni 1954
GEBURTSORT:	Berlin
ELTERN:	Heinrich Mieger Dorothea Mieger, geb. Sauermann
SCHULBILDUNG:	- 1961-1965: Volksschule Eisenberg/Pfalz - 1965-1966: Staatliche Realschule Eisenberg/Pfalz - 1966-1973: Staatliches NORDPFALZ-Gymnasium Kirchheimbolanden
REIFEPRÜFUNG:	18. Mai 1973
WEHRDIENST:	2. Juli 1973 - 31. März 1974 Sanitätsbataillon 5, Rennerod
PHARMAZIESTUDIUM:	SS 1974 bis SS 1977, Universität des Saarlandes Saarbrücken
PHARMAZIEPRAKTIKUM:	- 1. Dezember 1977 - 31. Mai 1978: Luitpold-Apotheke Grünstadt - 15. Juni 1978 - 15. Dezember 1978: Entwicklungsanalytik der BAYER AG Leverkusen
PHARMAZEUTISCHE PRÜFUNG:	18. Dezember 1978
APPROBATION:	18. Dezember 1978
BEGINN DER VORLIEGENDEN ARBEIT:	1. März 1979

ASSISTENTENTÄTIGKEIT:

- 1. März - 30. April 1979: Wissenschaftliche Hilfskraft
- 1. Mai 1979 - 30. April 1982: Verwalter der Stelle eines Wissenschaftlichen Assistenten
- ab 1. Mai 1982: Wissenschaftlicher Angestellter

am Institut für Pharmazeutische Chemie der Universität Düsseldorf